ISSN 0022-4847

台灣農業研究

第五十六卷　第一期

研究報告

水稻品種對淡黃化型白葉枯病之抗感病性
謝麗娟、張義璋、謝廷芳..01

Aminoethoxyvinylglycine 處理部位對‘台農甜蜜’桃成熟期、採收前落果及果實品質之影響
陸明德、宋家瑋、歐錫坤..11

丹參組織培養苗馴化處理及其植株丹參酮含量分析
陳威臣、曹進義、夏奇鈮..21

氣候變遷下水稻氣象資源利用效率之研究
姚銘輝、陳守泓、漆匡時..31

植酸酵素基因轉殖之馬鈴薯植株生長和產量評估
陳烈夫、曾文彬、魏夢麗、呂秀英..............................45

植物生長調節劑與光照處理對延胡索癒合組織增生與小塊莖形成之影響
陳威臣、蕭翌柱、蔡新聲、夏奇鈮..............................53

中華民國九十六年三月
行政院農業委員會農業試驗所出版
中華民國 台灣 台中縣 霧峰鄉

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 56(1):1~10 (2007)

水稻品種對淡黃化型白葉枯病之抗感病性[1]

謝麗娟[2] 張義璋[2] 謝廷芳[3,4]

摘　要

謝麗娟、張義璋、謝廷芳。2007。水稻品種對淡黃化型白葉枯病之抗感病性。台灣農業研究 56:1-10。

本研究於農試所試驗農場測定台灣 212 株白葉枯病菌菌株在水稻台中秈 10 號產生淡黃化型病徵之差異，及檢定 53 個稻品種表現淡黃化型病徵之罹病度。以 212 株菌株接種水稻，經 1999 及 2000 年 3 期作的試驗結果，有 72 株菌株可使水稻呈現淡黃化型病徵，其中 14 株菌株是在 1997 年首次嚴重發生淡黃化型病害之前所分離之菌株，顯示引起淡黃化型病徵之菌株早已存在台灣。以 3 株分離自淡黃化型病株和 3 株原保存分離自葉枯型病株之白葉枯病菌菌株，接種於 53 個推廣稻品種，經 2000 及 2001 年 4 期作的試驗結果，發現淡黃化型病徵之產生與菌株之致病力和稻品種之抗感病性有關，菌株間與稻品種間亦具交互差異性。自淡黃化型病株分離的菌株引起淡黃化型病徵之能力較強，且其造成之稻品種罹病度大多與其所造成之葉枯型病徵之罹病度間呈正相關，但反之非必然。此病徵型的出現在期作間亦有差異，以第一期作的罹病度較第二期作高。在供試品種中，有 27 個稻品種對所有供試菌株均不呈現淡黃化型病徵，具高抗病性，而另有 10 個品種對淡黃化型白葉枯病害為感病性。

關鍵詞：淡黃化型白葉枯病、稻品種、抗病性。

前　言

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* 引起之稻白葉枯病為台灣水稻主要流行病之一，本病有葉枯型 (leaf blight) 、急速萎凋型 (kresek) 及葉片淡黃化型 (pale yellow leaves) 等三種病徵。淡黃化型病徵會引起稻葉淡黃化，導致抽穗不良，發病嚴重時全株枯死 (Hsieh 2003；Mew 1987；Ou 1985)。西元 1997 年在彰化縣大村及鄰近鄉鎮地區的水稻二期作，首次發現淡黃化型白葉枯病嚴重發生。2000 年第一期稻作，花蓮改良場蘭陽分場郵寄宜蘭地區水稻病害標本至本所，經診斷證實為淡黃化型白葉枯病，為首次在第一期作發生之紀錄。

目前世界上有關淡黃化型病害之研究甚少，筆者等曾報告有關水稻不同生育期對淡黃化型白葉枯病菌株之反應，發現水稻早期感染才容易產生淡黃化型病徵，至孕穗期感染即不顯現該病徵 (Hsieh *et al*. 2006)。急性萎凋型 kresek 和淡黃化型病徵皆屬於系統性病害，水稻幼苗會產生 Kresek，成株則出現淡黃化型病徵，並指出高溫並非此二型病害發生之必要條件 (Hsieh *et al*. 2006)。

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2275 號。接受日期：95 年 12 月 25 日。
2. 本所植物病理組技佐與副研究員。台灣　台中縣　霧峰鄉。
3. 本所花卉研究中心研究員兼主任。台灣　雲林縣　古坑鄉。
4. 通訊作者，電子郵件：tfhsieh@wufeng.tari.gov.tw；傳真：(05)5820835。

本研究旨在測定白葉枯病菌菌株間引起淡黃化型病徵之差異，並檢定各推廣稻品種之抗感病性，以瞭解發生淡黃化型白葉枯病之因子，及獲悉抗病品種以提供育種及推廣栽培之參考依據。

材料與方法

引起淡黃化型病徵之白葉枯病菌菌株之檢定

以台灣水稻於西元 1997 年首次被發現嚴重發生白葉枯病淡黃化型病株所分離之菌株，與本稻作病害研究室 1997 年以前所分離，並以超低溫冷凍保存之所有白葉枯病菌株，共計 212 株菌株參試（表 1）。於 1999 年第一、二期作和 2000 年第一期作，在本所農場試驗田栽植供試稻品種台中秈 10 號，以一般稻作栽培方法管理，俟分蘗盛期時供接種。

將所有供試菌株，分別先以 Wakimoto's 固體培養基 (Ou 1985) 更新移植培養 72 hrs，使病菌活化，再移入 Wakimoto's 液體培養基，於室溫下振盪培養 72 hrs，並以無菌水調其濃度約在 10^{7-8}cfu/mL，作爲接種源 (Liao＆Chien 1982)。於田間以剪刀沾浸各供試菌株接種源，依剪葉法 (Hsieh *et al*. 2005；Kauffman *et al*. 1973) 分別接種於稻台中秈 10 號，每菌株接種 5 叢稻株，3 重複共 15 叢。接種後三週調查各處理水稻之葉枯型和淡黃化型病徵之罹病程度。

稻品種對可引起淡黃化型病徵之白葉枯病菌菌株之抗感病性測定

選取分別自花壇、大村採集之水稻淡黃化型病株莖節部位所分離之 3 株菌株，XG17、XG35、XG38，與本研究室原保存由屏東採集葉枯型病葉分離之 3 株菌株，XM1、XM10、XM23，作爲供試菌株。依上述接種源製備及接種方法，將此 6 株菌株分別接種於本所農場試驗田栽植至分蘗中期之稻株上。試驗於西元 2000 年進行，檢定 35 個優良稻品種，2001 年增加爲 51 個品種。於二年四期作中，總計有 53 個優良推廣稻品種參試，包括稉稻 24 個、秈稻 24 個、稉糯稻 3 個和秈糯稻 2 個。各期作中，每一菌株於每一品種上接種 5 叢稻株，3 重複共 15 叢。接種後三週調查各稻品種之葉枯型和淡黃化型病徵之罹病度。

罹病度之估計方法

葉枯型病徵之罹病度，係依 IRRI 所訂發病面積佔全葉面積之百分率爲其判定依據，未發現病斑者爲 0 級，發病面積率在 1%以下者訂爲 1 級，1-5%爲 3 級，6-25%爲 5 級，26-50%爲 7 級，51-100%爲 9 級 (International Rice Testing Program 1980)。淡黃化型病徵罹病度則分成三級，無黃化病徵者爲 0 級，發病黃化面積率 1-30%者爲 1 級，31-50%者爲 2 級，50%以上者爲 3 級。

結　　果

引起淡黃化型病徵之白葉枯病菌菌株

白葉枯病菌 212 株菌株接種於水稻台中秈 10 號稻株上，結果所有菌株於 1999 年第一期作之接種試驗都可使水稻產生葉枯型病徵，造成的罹病度在 7.0 以上者有 131 株菌株，其中 58 株菌株亦可使水稻出現淡黃化型病徵；而造成的罹病度在 7.0 以下的菌株中，只 2 株菌株產生淡黃化型病徵。第二期作之接種結果，所有菌株亦可使水稻產生葉枯型病徵，其中 98 株菌株造成之罹病度在 7.0 以上，而能使水稻產生淡黃化型病徵者有 26 株菌株；罹病度在 7.0 以下者，則均未能使水稻出現淡黃化型病徵。2000 年第一期作再接種時，所有菌株亦能使水稻發生葉枯型病徵，造成的罹病度

表 1. 供試水稻白葉枯病菌菌株

Table 1. Sources of isolates of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* used in the study

Isolate	Collection location	Collection date	Symptom	Isolated part	Isolate	Collection location	Collection date	Symptom	Isolated part
XB 2b	Tourcherng,Yilan	‘86.11. 1	LB[z]	Leaf	4,7	〃	‘92. 4.30	LB	Leaf
14,19	Jiaushi	‘92. 5.12	〃	〃	XM 1	Changlong, Pintung	‘86. 9.10	〃	〃
24	Juangwei	〃	〃	〃	2,7,9,10	Jwutyan	〃	〃	〃
XD 1	Guanshi,Hsinchu	‘87.11. 5	〃	〃	3	Shiangtzyyruh	〃	〃	〃
XF 1,2,3a,3b,4,	Shyrgang,Taichung	‘86.10. 2	〃	〃	16b,17b,19b	Shaluen	〃	〃	〃
8,9,10	〃	〃	〃	〃	21	Shinbei	〃	〃	〃
13,15,17,20,	TARI	‘86.10.15	〃	〃	23,24,26,	Jwutyan1	〃	〃	〃
31,35	〃	〃	〃	〃	27,28	〃	〃	〃	〃
44,50,54	Wufeng	‘86.10.18	〃	〃	29,30,31	Jwutyan2	〃	〃	〃
57b	TARI	‘87. 6. 2	〃	〃	XM 36	Jwutyan3	〃	〃	〃
78a,81	Wueng	‘87. 5.21	〃	〃	38	Sanchian	〃	〃	〃
84,85a,89b,	TARI	‘87.10.18	〃	〃	41~42	Shiangtzyyruh	〃	〃	〃
91a,91b,93b,	〃	〃	〃	〃	46	Changlong	〃	〃	〃
93b,94	〃	〃	〃	〃	49,50,51	Shiangtzyyruh	’88.10. 3	〃	〃
100,102b,	TARI	’87. 9.30	〃	〃	52,53,55	Yangtzsejeau	〃	〃	〃
103,106	〃	〃	〃	〃	57b,59	Meeiher	〃	〃	〃
110	TARI	’87.10.18	〃	〃	71,73	Fenggaang	〃	〃	〃
XG 8a,9	Shihwu,Changhua	’89.10.12	〃	〃	74,75a,75b	Herngchuen	〃	〃	〃
16	Ellshoei	’89.10.17	〃	〃	79	Liigaang	’88. 9.11	〃	〃
XH 1,2	Tsaotwen,Nantou	’86.10.14	〃	〃	83	Yangtzsejeau	’89.10. 2	〃	〃
4	Tsaotwen	’86.10. 7	〃	〃	85a,85b	Meeiher	〃	〃	〃
7b,8a,9a,	Gwoshing	〃	〃	〃	94,95,97,	Shiangtzyyruh	’92. 4.30	〃	〃
10a,12	〃	〃	〃	〃	99,101,102	〃	〃	〃	〃
15a	Mingjiann	’87. 6.16	〃	〃	XN 2,3	Taitung city	’86.10. 2	〃	〃
24,29a,29b	Nantou city	’89.10.12	〃	〃	6a,7a,7b,8	Guanshan	’86. 9.23	〃	〃
31,34	Jyijyi	〃	〃	〃	XO 4a	Rueysuey,Hualien	’86.11. 1	〃	〃
44~47	Jyijyi	’92. 5.21	〃	〃	7a	Hualien city	’87.10. 9	〃	〃
49~52	Mingjiann	〃	〃	〃	XO 604	Academia Sinica	—	〃	〃
54~56	Shoeilii	’92. 6. 2	〃	〃	XG 17~19	Huatarn,Changhua	’97.10.12	PY[y]	Stem’crown
XI 1a,2,3,4a,	Doouliow,Yunlin	’87.10.15	〃	〃	20~34	〃	’98. 5.22	〃	〃
5b,7	〃	〃	〃	〃	35~40	Dahtsuen	’97.10.12	〃	〃
9,28b,29	Doounan	’89.10.17	〃	〃	41~43	〃	’98. 5.22	〃	〃
32b,33	〃	’87.10.15	〃	〃	44~51	Shiowshoei	〃	LB＆PY	Leaf
XJ 1~2	Chiayi city	〃	〃	〃	52~78	〃	〃	LB	〃
XL 1~2	Meeinong,Kaohsiung	’88. 9.11	〃	〃	79~90	Paushin	〃	〃	〃

[z] LB=Leaf-blight.

[y] PY=Pale-yellow.

在 7.0 以上者有 71 菌株，其中 44 個菌株可產生淡黃化病徵，罹病度在 7.0 以下者都未出現淡黃化型病徵。總計三期作的接種結果，顯示共有 72 株菌株可引起水稻產生淡黃化型病徵，其中的 14 個菌株係 1997 年以前所分離保存的。且這些會引起淡黃化型病徵之菌株，同樣可造成葉枯型病徵，其罹病度除 XH31 為 5.4 和 XG37 為 6.4 外，其餘則均在 7.0 以上（表 2）。

稻品種對可引起淡黃化型病徵之白葉枯病菌株之抗感病性

經 2 年 4 期作田間試驗結果，發現 53 個推廣稻品種接種所有供試 6 株菌株後均會產生葉枯型病徵，但僅少數品種會出現淡黃化型病徵，且依菌株及品種不同而有差異（表 3）。會引起淡黃化型病徵的菌株，除少數稻品種例外，對大多數稻品種呈現葉枯型之罹病度都有較高的趨勢，但會引起較高葉枯型罹病度的菌株，則並不一定會引起淡黃化型病徵。在此 6 個供試菌株中，以 XG35 菌株引起淡黃化型病徵之能力最強。在所有 53 個供試稻品種中，共計有 27 個品種於所有菌株之接種試驗，均未出現淡黃化型病徵，屬最具抗病性之品種（表 3）。

另外，比較期作間之差異，可能係受氣候因素之影響，第二期作有較多稻品種之葉枯型罹病度比第一期作低，相對的其呈現淡黃化型病徵之罹病度亦較低或不表現（表 4）。綜合這 2 年 4 期作之接種結果，供試稻品種中，秈稻比稉稻較易罹患淡黃化型病徵，表現對淡黃化型病徵較感病者有 IR8、IR20、IR26、Tkm6、Cas209、嘉農秈 11 號、台中秈 3 號、台中秈 10 號、台中秈 16 號、高雄秈 1 號、高雄秈 7 號、台中在來 1 號、台農秈 18 號、台農秈 19 號、台中秈糯 1 號、台農 61 號、台北 309 號、新竹 56 號、台中 65 號、台中 189 號、台東 29 號、台稉 2 號、台稉 3 號、台稉 9 號、台稉 12 號和台中糯 70 號等共 26 個品種。其中以 IR 8、IR 20、嘉農秈 11 號、台中秈 3 號、台中秈 10 號、台中秈 16 號、高雄秈 1 號、高雄秈 7 號、台中在來 1 號及台中秈糯 1 號等共 10 個，屬感病性較高之品種（表 4）。

討　論

本研究於田間以台中秈 10 號稻品種測定台灣 212 個白葉枯病菌菌株，經連續 2 年 3 期作接種試驗，結果共有 72 個菌株會使水稻出現淡黃化型病徵，顯示菌株間在引起淡黃化型病徵上有甚大差異。有些引起淡黃化型病徵之菌株係於 1997 年首次發現淡黃化型白葉枯病嚴重發生以前所分離保存的菌株，如 XM1 和 XM23 是於 1986 年由屏東昌隆和竹田等地區之二期作稉稻所採集分離的菌株，由此可見引起淡黃化型病徵之菌株應是在此病徵型病害被發現之前即已存在台灣，而非新菌系之出現。為何在 1997 年以前未發現此病徵型病害，是否因稻品種、氣候條件或其他因子的影響則不得而知。另外，引起淡黃化型病徵之菌株，多數會引起極感病性葉枯型病徵；反之，會引起極感病葉枯型者，並不一定會引起淡黃化型病徵，顯示會造成淡黃化型病徵之菌株多為致病力較強者。

田間檢定 53 個推廣稻品種對引起淡黃化型病徵之菌株之抗感病性，由 2 年 4 期作之結果顯示，自淡黃化型病株分離之菌株，引起淡黃化型病徵之致病力較強；原保存菌株中，XM23 亦具較強之致病力，XM1 和 XM10 在若干品種上表現葉枯型病害之罹病度雖較高，但卻較少引起淡黃化型病株。另外無論葉枯型或淡黃化型病徵，在供試 53 個水稻品種間呈現有明顯抗感病性差異。據此可知出現淡黃化型白葉枯病，應與菌株之致病力與稻品種之抗感病性有極大關係。菌株間與稻品種間亦具交互差異性，品種產生淡黃化型病徵的罹病度，大多與其形成葉枯型病徵者呈正相關，但對其葉枯型病徵呈較感病者，不一定就產生淡黃化型病徵或呈現較高之罹病度。淡黃化型病徵的出現，

表 2. 供試水稻白葉枯病菌菌株中可使水稻品種台中秈 10 號表現淡黃化型病徵之 72 株菌株及其引起葉枯型病徵之發病程度

Table 2. Production of pale yellow leaf symptoms and severity of leaf blight symptoms on rice cultivar Taichung sen No.10 by inoculation with 72 out of all tested strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

	Disease index[z] (pale-yellow-leaf/leaf-blight)				Disease index (pale-yellow-leaf/leaf-blight)		
Isolate	1999(I)	1999(II)	2000(I)	Isolate	1999(I)	1999(II)	2000(I)
XF 3-b	1.7/9.0	0.8/9.0	2.8/9.0	XG 39	0.0/2.4	2.6/9.0	—[y]
XF 78-a	0.7/7.0	0.0/7.0	0.0/5.4	XG 40	0.0/0.6	0.0/9.0	3.0/7.0
XF 85-a	0.1/9.0	0.0/7.0	0.0/5.0	XG 41	2.7/9.0	0.0/9.0	1.8/7.4
XH 2	0.2/7.0	0.0/7.0	0.0/5.0	XG 42	3.0/9.0	0.0/9.0	1.7/9.0
XH 10-a	0.0/7.0	0.0/9.0	1.8/7.0	XG 46	0.2/9.0	—	0.0/5.0
XH 31	0.8/5.4	0.0/5.0	0.0/5.0	XG 47	0.8/9.0	0.0/5.0	0.0/3.0
XJ 2	0.0/9.0	0.0/7.0	1.8/9.0	XG 51	0.2/8.2	0.0/5.0	0.0/0.4
XM 1	0.1/9.0	0.0/7.0	0.0/7.0	XG 52	2.4/9.0	0.4/9.0	2.8/8.0
XM 23	2.3/9.0	0.0/5.0	3.0/9.0	XG 53	0.6/9.0	0.0/7.0	0.0/5.0
XM 41	1.8/9.0	0.0/5.0	1.8/9.0	XG 54	0.6/9.0	1.2/9.0	0.0/2.4
XM 49	2.6/9.0	0.0/7.0	0.0/7.0	XG 56	2.9/9.0	0.0/9.0	1.8/7.4
XM 52	2.3/9.0	0.0/5.0	2.8/9.0	XG 57	2.6/9.0	—	0.0/2.2
XM 71	1.0/9.0	0.0/5.0	1.4/9.0	XG 59	0.7/9.0	0.0/7.0	0.0/7.0
XM 73	1.4/9.0	0.0/7.0	0.0/5.0	XG 60	1.4/9.0	0.0/7.0	0.0/5.0
XG 17	0.0/5.0	1.7/9.0	3.0/9.0	XG 61	0.8/9.0	0.0/9.0	3.0/7.8
XG 18	0.0/7.0	2.3/9.0	3.0/8.6	XG 62	0.3/9.0	0.0/9.0	3.0/7.4
XG 19	1.8/9.0	1.3/9.0	3.0/9.0	XG 68	0.0/9.0	0.0/7.0	3.0/9.0
XG 20	0.4/9.0	0.0/5.0	0.0/5.0	XG 69	0.8/9.0	0.0/9.0	0.0/5.0
XG 21	0.9/9.0	0.0/7.0	0.0/7.0	XG 70	2.0/9.0	0.0/9.0	2.9/9.0
XG 22	2.1/9.0	0.0/9.0	0.4/9.0	XG 71	0.5/9.0	0.0/9.0	0.0/7.0
XG 23	2.0/9.0	1.3/9.0	1.8/9.0	XG 72	1.5/9.0	0.0/9.0	2.7/7.4
XG 24	2.2/9.0	0.3/9.0	1.4/9.0	XG 73	2.0/9.0	0.0/9.0	1.5/7.0
XG 25	1.4/9.0	0.0/9.0	0.0/7.0	XG 74	2.6/9.0	2.3/9.0	0.5/8.2
XG 26	0.5/9.0	0.0/7.0	0.0/5.0	XG 75	2.0/9.0	—	0.0/1.9
XG 27	2.0/9.0	0.3/9.0	0.0/7.0	XG 76	0.9/9.0	1.0/9.0	2.6/9.0
XG 28	2.4/9.0	0.0/5.0	0.0/5.0	XG 79	2.8/9.0	3.0/9.0	2.8/9.0
XG 29	2.8/9.0	0.0/9.0	0.9/7.0	XG 80	1.4/9.0	0.0/5.0	0.0/5.0
XG 30	2.9/9.0	1.0/9.0	2.9/8.6	XG 81	2.8/9.0	3.0/9.0	3.0/9.0
XG 31	2.1/9.0	1.2/9.0	2.0/9.0	XG 82	2.7/9.0	3.0/9.0	3.0/9.0
XG 32	0.3/7.0	0.0/9.0	1.3/7.0	XG 83	1.2/8.2	3.0/9.0	3.0/9.0
XG 33	2.9/9.0	0.0/9.0	0.0/5.0	XG 84	0.4/9.0	0.7/9.0	0.8/7.0
XG 34	2.4/9.0	0.9/9.0	3.0/9.0	XG 86	2.5/9.0	0.0/9.0	3.0/9.0
XG 35	0.0/5.0	0.2/7.0	3.0/9.0	XG 87	0.0/9.0	2.8/9.0	3.0/9.0
XG 36	2.7/9.0	1.9/9.0	2.4/9.0	XG 88	0.0/9.0	0.0/7.0	3.0/7.0
XG 37	0.6/6.4	2.4/9.0	—	XG 89	0.0/9.0	2.7/9.0	2.9/9.0
XG 38	2.3/9.0	2.2/9.0	2.9/7.0	XG 90	0.0/9.0	0.0/9.0	2.9/8.0

[z] pale-yellow-leaf of the area of the youngest leaf showing pale yellow symptoms, 0: no symptoms, 1: less than 10%, 2: 10-30%, 3: 31-100%. leaf blight of the area of infected leaves showing necrotic symptoms, 0:no symptoms, 1:less than 1%, 3:1-5%, 5:6-25%, 7:26-50%, 9:51-100%.

[y] —: not tested.

表 3、水稻良質米品種於 2000 至 2001 年 4 期作接種 6 株白葉枯病菌株之總平均罹病度

Table 3. Average disease index of 53 rice varieties inoculated with 6 isolates of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in 4 continuous crop seasons during 2000 to 2001

Rice varieties	Disease index[z] (pale-yellow-leaf / leaf-blight)						
	XM 1	XM 10	XM 23	XG 17	XG 35	XG 38	CK
IR 8	1.0/6.2	0.2/7.3	1.0/7.5	2.3/7.8	2.6/8.3	2.4/6.6	0/0
IR 20	1.3/8.0	0.8/8.5	1.7/8.0	2.4/7.0	2.9/9.0	2.4/7.0	0/0
IR 26	0 /3.3	0 /3.5	0 /3.2	0.5/4.0	0.9/5.0	0 /4.3	0/0
Tkm 6	0 /4.0	0 /4.4	0 /3.5	0 /3.5	1.3/5.0	0 /3.7	0/0
Cas 209	0.2/3.9	0.1/5.0	0 /3.8	0.1/4.0	0.2/3.0	0.1/3.5	0/0
Chianung sen 11	0 /7.0	0 /8.0	1.4/8.5	2.4/7.6	2.8/8.9	1.7/7.5	0/0
Taichung sen 3	0 /6.5	0 /7.5	0.1/7.5	2.0/7.5	1.8/8.3	1.7/7.0	0/0
Taichung sen 10	0.2/6.0	0 /8.0	1.2/7.5	2.0/8.0	3.0/8.7	2.1/7.3	0/0
Taichung sen 16	0.7/6.5	0 /7.1	2.1/7.2	1.8/8.0	3.0/8.8	1.9/7.4	0/0
Kaohsiung sen 1	0 /7.2	0 /8.0	1.2/9.0	1.5/8.5	0 /4.1	1.7/7.7	0/0
Kaohsiung sen 7	0 /6.5	0 /7.5	0.9/7.5	1.5/7.5	3.0/7.0	1.8/7.7	0/0
Taichung native 1	0 /5.5	0 /8.1	1.1/7.5	1.5/8.6	2.0/7.8	2.0/8.3	0/0
Tainung 61	0 /5.0	0 /5.1	0 /5.5	0 /6.0	0.7/6.3	0 /6.3	0/0
Taipei 309	0 /5.0	0 /5.5	0 /5.5	0 /6.2	1.0/5.7	0 /6.3	0/0
Hsinchu 56	0 /5.0	0 /5.0	0 /5.6	0 /7.0	0.6/6.3	0 /6.3	0/0
Taichung 65	0 /5.0	0 /6.0	0 /5.5	0 /7.0	0 /7.0	0.4/7.0	0/0
Taichung 189	0 /5.0	0 /6.3	0 /5.7	0 /6.0	0.5/6.5	0 /6.3	0/0
Taitung 29	0 /5.0	0 /6.0	0 /5.5	0 /6.0	0.6/7.0	0 /5.9	0/0
Tainung sen 18	0 /4.5	0 /4.5	0 /4.5	0 /4.8	0 /5.0	0.3/5.0	0/0
Tainung sen 19	0 /4.5	0 /4.5	0 /4.3	0 /3.8	0 /5.0	0.1/4.5	0/0
Tai-keng 2	0 /4.5	0 /5.0	0 /5.0	0 /7.0	0.6/7.0	0 /6.3	0/0
Tai-keng 3	0 /4.6	0 /5.0	0 /5.2	0 /6.0	0.3/5.9	0 /6.1	0/0
Tai-keng 9	0 /5.0	0 /5.0	0 /5.0	0 /3.0	0 /5.0	0.3/5.0	0/0
Tai-keng 12	0 /5.0	0 /7.0	0.2/5.0	0 /5.0	0 /5.0	0 /7.0	0/0
Taichung sen glutinous 1	0 /4.4	0 /6.0	1.0/6.2	0 /3.0	0 /5.0	0 /3.0	0/0
Taichung glutinous 70	0 /5.0	0 /5.6	0 /5.3	0 /5.7	0.3/5.0	0 /7.0	0/0
IR 30	0 /3.0	0 /4.0	0 /3.5	0 /4.0	0 /2.2	0 /3.5	0/0
IR 1514A	0 /2.6	0 /2.8	0 /2.7	0 /3.0	0 /1.9	0 /3.0	0/0
IR 1545-339	0 /2.9	0 /3.6	0 /2.9	0 /3.9	0 /3.9	0 /3.3	0/0
DV 85	0 /1.1	0 /2.5	0 /2.5	0 /3.2	0 /2.0	0 /2.9	0/0
Kogyoku	0 /4.5	0 /5.5	0 /5.5	0 /6.0	0 /4.0	0 /5.7	0/0
Chugoku 45	0 /5.0	0 /5.0	0 /5.0	0 /6.5	0 /5.9	0 /5.3	0/0
Tainung sen 12	0 /3.0	0 /3.5	0 /3.5	0 /3.0	0 /4.3	0 /3.8	0/0
Chianung sen 6	0 /4.5	0 /4.5	0 /4.1	0 /3.1	0 /5.0	0 /4.1	0/0
Taichung sen 2	0 /4.0	0 /4.0	0 /3.0	0 /3.0	0 /5.0	0 /5.0	0/0
Taichung sen 17	0 /3.0	0 /5.0	0 /4.0	0 /3.0	0 /5.0	0 /5.0	0/0
Tainung 67	0 /5.0	0 /5.2	0 /6.0	0 /5.0	0 /5.0	0 /7.0	0/0
Tainung 70	0 /5.0	0 /5.0	0 /5.7	0 /7.0	0 /6.1	0 /6.3	0/0
Taichung178	0 /5.0	0 /6.1	0 /5.0	0 /6.2	0 /6.0	0 /6.0	0/0
Chianan 8	0 /5.2	0 /5.3	0 /5.0	0 /5.7	0 /5.5	0 /5.7	0/0
Tainan 9	0 /5.0	0 /5.0	0 /5.5	0 /6.0	0 /5.7	0 /5.7	0/0
Kaohsiung 139	0 /4.0	0 /5.0	0 /6.0	0 /5.0	0 /3.0	0 /7.0	0/0
Kaohsiung 141	0 /5.0	0 /5.0	0 /6.0	0 /5.0	0 /7.0	0 /7.0	0/0
Kaohsiung 142	0 /4.6	0 /5.0	0 /5.5	0 /5.0	0 /5.7	0 /5.4	0/0
Tai-keng 5	0 /5.0	0 /7.0	0 /5.0	0 /5.0	0 /7.0	0 /7.0	0/0
Tai-keng 8	0 /5.0	0 /5.0	0 /5.0	0 /8.0	0 /5.0	0 /5.0	0/0
Tai-keng 11	0 /5.0	0 /5.0	0 /5.0	0 /5.0	0 /5.0	0 /7.0	0/0
Tai-keng 14	0 /5.0	0 /5.0	0 /5.0	0 /5.0	0 /5.0	0 /7.0	0/0
Tai-keng 16	0 /5.0	0 /6.0	0 /6.0	0 /5.0	0 /7.0	0 /7.0	0/0
Tai-keng 17	0 /5.0	0 /6.0	0 /6.0	0 /5.0	0 /7.0	0 /7.0	0/0
Tai-sen glutinous 2	0 /4.0	0 /4.0	0 /3.0	0 /3.0	0 /5.0	0 /5.0	0/0
Tai-keng glutinous 1	0 /4.0	0 /5.0	0 /4.4	0 /5.0	0 /7.0	0 /7.0	0/0
Tai-keng glutinous 5	0 /5.0	0 /5.0	0 /5.4	0 /5.0	0 /5.0	0 /6.0	0/0

[z] See the foot note z in Table 2.

表 4. 不同期作間水稻品種接種後出現白葉枯病淡黃化型病徵與葉枯型病徵反應之比較

Table 4. Comparison of susceptibility of rice cultivars based on pale-yellow-leaf symptoms or leaf blight symptoms of bacterial blight among four crop seasons during 2000 to 2001.

Rice cultivar	Disease index[z] (pale-yellow-leaf / leaf-blight)				
	2000(I)	2000(II)	2001(I)	2001(II)	Average
Indica rice					
IR.8	2.1 / 7.3	1.7 / 7.6	0.9 / 6.6	0.1 / 7.2	1.20 / 7.2
IR 20	2.5 / 7.3	2.0 / 8.0	1.3 / 8.5	0.8 / 8.6	1.65 / 8.1
IR 26	0.6 / 5.0	0 / 3.6	0 / 4.3	0 / 1.0	0.15 / 3.5
Tkm 6	0.5 / 4.1	0 / 4.3	0 / 4.9	0 / 1.9	0.13 / 3.8
Cas 209	0 / 5.0	0.4 / 3.4	0 / 3.0	0 / 4.3	0.10 / 3.9
Chianung sen 11	1.9 / 7.5	0.8 / 7.8	1.6 / 9.0	0 / 7.0	1.08 / 7.8
Taichung sen 3	1.4 / 7.5	0.5 / 8.0	0.6 / 7.0	0 / 6.3	0.63 / 7.2
Taichung sen 10	1.4 / 7.8	1.0 / 7.2	1.7 / 8.2	0.7 / 6.3	1.20 / 7.4
Taichung sen16	2.4 / 7.7	0.7 / 7.1	1.7 / 7.8	0.7 / 6.6	1.38 / 7.3
Kaohsiung sen 1	1.1 / 7.0	0 / 8.0	1.0 / 7.4	0.4 / 7.2	0.63 / 7.4
Kaohsiung sen 7	1.4 / 7.2	0.5 / 7.0	1.4 / 8.2	0.2 / 6.3	0.88 / 7.2
Taichung native 1	1.5 / 7.6	0 / 8.0	1.8 / 7.0	0.4 / 7.0	0.93 / 7.4
Tainung sen 18	0 / 5.0	0 / 4.9	0.2 / 5.0	0 / 3.0	0.05 / 4.5
Tainung sen 19	0 / 4.7	0 / 4.5	0.1 / 5.0	0 / 3.0	0.03 / 4.3
Taichung sen glutionous 1	—	—	0 / 3.5	0.6 / 7.9	0.30 / 5.7
Japonica rice					
Tainung 61	0.3 / 6.0	0 / 5.0	0 / 6.3	0 / 5.0	0.08 / 5.6
Taipei 309	0.5 / 6.1	0 / 5.0	0 / 6.2	0 / 5.0	0.13 / 5.6
Hsinchu 56	0.3 / 6.1	0 / 5.7	0 / 5.8	0 / 5.0	0.08 / 5.7
Taichung 65	0.2 / 6.0	0 / 6.0	0 / 7.0	0 / 5.0	0.05 / 6.0
Taichung 189	0.3 / 6.1	0 / 5.3	0 / 6.6	0 / 5.7	0.08 / 6.0
Taitung 29	0.3 / 5.4	0 / 5.7	0 / 6.6	0 / 5.7	0.08 / 5.9
Tai-keng 2	0.3 / 6.0	0 / 5.7	0 / 5.8	0 / 4.3	0.08 / 5.5
Tai-keng 3	0.1 / 6.1	0 / 5.0	0 / 5.4	0 / 4.4	0.03 / 5.2
Tai-keng 9	—	—	0.1 / 5.0	0 / 5.0	0.05 / 5.0
Tai-keng 12	—	—	0.1 / 5.8	0 / 5.7	0.05 / 5.8
Taichung glutinous 70	—	—	0.1 / 5.0	0 / 5.4	0.05 / 5.5

[z] See the foot note z in Table 2.

行政院農業委員會農業試驗所 AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE 1895

期作間亦有差異，以第一期作之罹病程度較第二期作高。再由第一年第二期作淡黃化型之罹病度比第一期作低，第二年第一期作又再提高，故知第二期作罹病低並非菌株病原性差異所致。又台灣水稻栽培期間，第二期作分蘗期之氣溫較第一期作高，故高溫亦非淡黃化型病害發生之必要條件 (Hsieh *et al*. 2006)，與以往文獻所記載認爲高溫較易發病之現象 (Goto 1964；Hsieh 1978；Mew 1987；Ou 1985) 有差異。

供試稻品種中，共篩選出 27 個稻品種對所有菌株都不呈現淡黃化型病徵，可提供育種人員抗病種源選試之用。而檢定出 26 個對淡黃化型病徵較具感病性之稻品種（表 4），其中以 IR 8、IR 20、嘉農秈 11 號、台中秈 3 號、台中秈 10 號、台中秈 16 號、高雄秈 1 號、高雄秈 7 號、台中在來 1 號及台中秈糯 1 號等共 10 個，屬感病性較高之品種，建議栽種這些推廣品種時，應避免栽植於疫區，以減少損害。

淡黃化型白葉枯病主要發生於熱帶水稻栽培區，台灣於 1997 年二期作才首次發生嚴重害病。探討此病害之發病因子，由所有相關實驗研究結果，認爲係與菌株、稻品種、感染時期和感染部位等因子有關。引起此淡黃化型病徵之菌株原早已存在台灣，且菌株間之致病力存在差異性。又稻品種間之抗感病性亦存在差異性。水稻早期感染容易發生此病徵型病害，幼苗感染產生系統性萎凋稱爲”kresek”，成株系統性感染呈淡黃化型病徵，尤其在基部莖節處被感染時易發生此病徵型。另外由試驗結果證明高溫與淡黃化型白葉枯病的發生相關性不大。

引用文獻 (Literature cited)

Goto, M. 1964. “Kresek”and pale yellow leaf, systemic symptoms of bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* (Uyeda & Ishiyama) Dowson. Plant Dis. Rep. 48:858-861.

Hsieh, L. J., Y. C. Chang and T. F. Hsieh. 2005. Improvement of resistant screening techniques for bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. J. Taiwan Agric. Res. 54:15-22.（in Chinese with English abstract)

Hsieh, L. J., Y. C. Chang and T. F. Hsieh. 2006. The reaction of Taichung Sen No. 10 rice variety at different growth stages to pale-yellow isolates of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. J. Taiwan Agric. Res. 55. (in press) (in Chinese with English abstract)

Hsieh, S. P. Y. 1978. Factors affecting the expression of Kresek symptom on rice infected with *Xanthomonas oryzae*, the causal organism of bacterial blight. P.185-198 *in*：Rice Pests and Diseases: Ecology and Epidemiology. (R. C. Chuo ed.) Council of Agriculture, The Joint Commission on Rural Reconstruction. Taipei. Taiwan. (in Chinese)

Hsieh, S. P. Y. 2003. Bacterial blight of rice. p.323-338 *in*: Plant Protection Serial Book No.8- Rice Protection (Vol.2). Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture. Taipei, Taiwan. (in Chinese)

IRRI. 1980. International Rice Testing Program-Standard Evaluation System for Rice. 2nd ed. IRRI, Philippines 44 pp.

Kauffman, H. E., A. P. K. Reddy, S. P. Y. Hsieh, and S. D. Merca. 1973. An improved technique for evaluating resistance of rice varieties to *Xanthomonas oryzae*. Plant Dis. Rep. 57:537-541.

Liao, Y. M., and C. C. Chien. 1982. Pathotypes of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in Taiwan. J. Agric. Res. China 31(4):321-333. (in Chinese with English abstract)

Mew, T. W. 1987. Current status and future prospects of research on bacterial blight of rice. Annu. Rev. Phytopathol. 25:359-382.

Ou, S. H. 1985. Bacterial leaf blight. p.61-96. *in*: Rice Disease. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 380 pp.

行政院農業委員會農業試驗所 AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE 1895

Susceptibility of Rice Varieties to Pale-Yellow-Leaf Type of Bacterial Leaf Blight Caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*[1]

Lih-Jiuan Hsieh[2], Yih-Chang Chang[2] and Ting-Fang Hsieh[2,3]

Abstract

Hsieh, L. J., Y. C. Chang, and T. F. Hsieh. 2007. Susceptibility of rice varieties to pale-yellow-leaf type of bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. J.Taiwan Agric. Res. 56:1-10.

The ability of 212 Taiwanese isolates of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) to induce pale-yellow-leaf (PYL) symptom on the rice cultivar Taichung sen 10 and the susceptibility of 53 rice cultivars to express PYL symptom after inoculation with Xoo were studied in the experimental field of Taiwan Agricultural Research Institute (TARI). The results from experiments conducted in three crop seasons of 1999 and 2000 showed that the PYL symptom was observed on the plants inoculated with 72 out of 212 tested isolates. Among the 72 isolates, 14 were isolated before 1997 when the first incidence of PYL symptom was observed on rice in Taiwan, indicating strains that are able to cause PYL symptom have already existed. Three isolates of Xoo from plants showing leaf-blight symptoms and three isolates from plants showing PYL symptoms were used to inoculate 53 rice cultivars in 4 continuous crop seasons of 2000 and 2001. The results revealed that the occurrence of PYL symptoms was associated with the virulence of Xoo isolates and the susceptibility of rice cultivars. The differential interaction between rice varieties and isolates of the pathogen was also observed. The isolates from PYL plants caused more severe PYL symptoms than those from leaf blight plants. In addition, the cultivars with high disease index of PYL symptoms also showed high disease severity of leaf-blight symptoms, but not vis versa. The severity of PYL symptoms in the 1st crop was higher than that in the 2nd crop. Among 53 cultivars tested, 27 did not show PYL symptoms and were considered as highly resistant to pale-yellow-leaf disease, but 10 cultivars were most susceptible to express PYL symptoms.

Key words: Pale-yellow-leaf of rice bacterial blight, Rice varieties, Disease resistance.

---

1. Contribution No. 2275 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: December 25, 2006.
2. Research Assistant and Former Associate Researcher, Plant Pathology Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Senior Researcher and director, Floriculture Research Center, ARI, KuKeng, YunLin, Taiwan, ROC.
4. Corresponding author, E-mail: tfhsieh@wufeng.tari.gov.tw; Fax: (05)5820835.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 56(1):11~20 (2007)

Aminoethoxyvinylglycine處理部位對'台農甜蜜'桃成熟期、採收前落果及果實品質之影響[1]

陸明德[2] 宋家瑋[2] 歐錫坤[2,3]

摘 要

陸明德、宋家瑋、歐錫坤。2007。Aminoethoxyvinylglycine 處理部位對 '台農甜蜜' 桃成熟期、採收前落果及果實品質之影響。台灣農業研究 56:11-20。

乙烯合成抑制劑 Aminoethoxyvinylglycine (AVG) 150 ppm 於採收前 10 日各別噴灑於 '台農甜蜜'桃果實、葉片及全株，以不處理為對照，共計四處理。果實分 3 梯次採收後，調查成熟早晚、落果量、果重、硬度、可溶性固形物與可滴定酸含量。試驗結果顯示葉面噴灑 AVG 於採收初期對延遲果實成熟、降低落果率與增加果實硬度上確實有效，但其效果無法延續至處理後 17 日，AVG 藥劑需接觸到果實表面，才能發揮最大效用。AVG 處理於果實可減少採收初期 11.7%的採果數、降低總產期 15.3%落果率、且延長產期 7 天。在果實品質上，所有 AVG 處理後 10 天採收時之果實硬度較對照組最多可高出 4.0 kg/cm^2；糖度方面可提高 1°Brix，並延續至處理後 17 天。

關鍵詞：桃、AVG、採收期、果肉硬度。

前 言

乙烯是植物賀爾蒙中的一種，具有刺激果實後熟、軟化及內生乙烯合成等作用 (Pratt & Goeschl 1969)。在更年性果實中乙烯扮演誘發與持續後熟行為的重要角色，其合成與作用有密切直接的關係存在，可改變桃果實成熟時果皮顏色、硬度與香氣等 (Tonutti *et al*. 1996; Cecchi *et al*. 2001)。桃果實在生長過程後期，會有乙烯大量生成之現象，造成果實軟化與硬度下降；'台農甜蜜' 桃果實在乙烯生成率快速上升前，硬度約在 15 kg/cm^2 上下，糖度約在 10.7-12.6°Brix 之間，為適採期的參考 (Ou *et al*. 2006)。

在高等植物中乙烯的生成是由 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) synthase 所控制，其將 S-adenosyl-methionine 轉變成 ACC，再由 ACC oxidase 將 ACC 轉變成乙烯 (Yang & Hoffman 1984)。Aminoethoxyvinylglycine (AVG) 是一種乙烯生合成抑制劑，其主要作用在抑制 ACC synthase 酵素活性，降低乙烯生成 (Yu & Yang 1979)。研究報告顯示於桃果實採收前使用 AVG 可延遲果實成熟、降低採收前落果、提高果實硬度、增加果實糖度與提升產量，然其效果因噴施濃度、時間、及參試品種而有所不同 (Belding & Lokaj 2002; Cline 2006; Kim *et al*. 2004; Rath & Prentice 2004; Singh *et al*. 2003; Vizzotto *et al*. 2002)。ReTain (Valent Biosciences Corporation 製造，台灣商品名：安

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2276 號。接受日期：96 年 1 月 15 日。
2. 本所作物組約聘助理、助理研究員及研究員兼組長。台灣 台中縣 霧峰鄉。
3. 通訊作者，電子郵件：skou@wufeng.tari.gov.tw；傳真：(04)23399544。

果) 是一種商用生長調節物質，內含 15% AVG，於國外首先註冊使用在降低蘋果採收前落果，而後註冊於桃子和油桃上，國內亦列爲調節桃子採收期與預防採收前落果之推薦藥劑 (Fei & Wang 2005) 。然桃樹於其建議處理時間，果實皆已完成套袋作業，紙袋會阻隔果實表面直接吸收 AVG，因此需將紙袋拆除施藥後再重新套袋，增加生產成本。本試驗目的主要探討 AVG 噴果實、噴葉片及噴全株等不同處理對 ‘台農甜蜜’ 桃成熟期早晚、採收前落果、果實特性之影響，期能作爲桃樹產業實際應用之參考。

材料與方法

本試驗以種植於台中縣東勢鄉網室果園 9 年生的 ‘台農甜蜜’ 桃爲供試材料。桃樹依慣行栽培管理方式，行整枝修剪、施肥灌溉及病蟲害防治等田間作業，並於開花後小果期進行疏果工作。AVG（商品名：安果，Valent Biosciences Corporation 製造）以水稀釋 1000 倍（有效成分 150 mg/L）加入展著劑 Breakthruogh S240 1000 倍，於預計桃子第一次採收前 10 天以一般噴霧器，將藥劑均勻噴灑於桃樹葉片或果實上。

本試驗於 2006 年 5 月 5 日進行 4 種處理，處理 I （套袋後噴全株）：果實套袋完成後，以藥劑直接均勻噴灑在樹冠枝葉上；處理 II （噴果實後套袋）：以藥劑噴施果實後，進行套袋作業；處理 III（噴全株後套袋）：以藥劑噴灑均勻全株後，進行套袋作業；處理 IV（對照組）：套袋樹空白對照，果實進行套袋作業後以清水加展著劑 1000 倍均勻噴灑樹冠。上述處理以單株爲單位，每株處理 80 粒果實，各以 3 重複進行試驗，共處理調查 12 株。果實於噴施後 10 天進行第一次採收，以 7 天爲間隔作爲下次採收日期，至採收期結束爲止。採收標準爲果皮底色由淡綠轉變成白綠或乳白，向陽面有紅斑出現，果蒂處由淡綠轉黃。每次採收時登記單株採果數與落果數量，換算成相對於總結果量之採收率與落果率百分比，並調查果重、計算總產量、以數字型糖度計 (Refractometer, Atago PR-101, Japan) 測定糖度、以數字型連續滴定器 (Digital Buret, Walu Continuous E/RS, Germany) 以 0.1N NaOH 溶液滴定，依蘋果酸計算滴定標準，測定可滴定酸度。以攜帶式硬度計 (Fruit Pressure Tester, mod. FT 327 (3-27 lb) , Facchini, Alfonsine, Italy) 裝配直徑 8 mm 鑽頭測量硬度，於果實表面的赤道部分切除直徑 1-2 cm 的果皮，再以硬度計測定，在果實測定點的正對面，選定第二點，再測讀數取其平均值爲硬度。試驗所得之數據以 Excel 軟體進行最小顯著差異測驗法 (Least significant difference test, LSD)，以 5%顯著水準，分析各處理間有無顯著差異。

結　　果

‘台農甜蜜’ 桃於 2006 年 5 月 5 日進行 AVG 處理，果實於 2006 年 5 月 15 日進行第一次採收，其中以對照組所採收果實數最多，佔總結果數之 18.9%，其次爲處理 II (9.2%)，再者爲處理 III (7.2%)；處理 I 採收果實數最少，佔總結果數 5.0%，所有 AVG 處理與對照組比較皆有顯著差異（表 1）。第二次採收期爲 ‘台農甜蜜’ 桃之盛產期，果實採收數以處理 III 53.3 個爲最多，佔總結果數 72.4%；處理 I 爲 65.3%，對照組爲 46.3%，此時處理 I 與對照組，皆已完成所有果實採收（表 1）。第三次採收時僅處理 II 與處理 III 仍有果實（表 1），表示有 AVG 噴灑於果實之處理可延長產期 7 天。

第一次採收時各處理落果數佔總結果量的 0.8-2.6%之間（表 1），第二次採收期爲落果旺期，果實落果率佔總結果量的 16.7-32.2%。對照組之總落果率爲 34.8%，處理 AVG 可降低果實落果率，以全株噴灑 AVG（處理Ⅲ）效果最佳，總落果率可降至 19.5%（表 1）。

各處理間果實重量之比較，第一次採收時果實大小以處理Ⅲ果實較小 (109.9 g)，但統計上未達顯著水準（表 2）。第二次採收時果實對照組 (116.3 g) 和處理Ⅱ (116.3 g) 大小相等，處理Ⅲ (99.7 g) 與處理 I (102.8 g) 果實較小，與前者有顯著性差異（表 2）。最後一次採收時果實雖明顯較前兩次採收期爲小 (86.5 g 與 86.3 g)，但對照組與處理 I 已採不到果實。

表 1. AVG 不同處理方式對‘台農甜蜜’桃不同採收時期果實採收數與落果數之調查

Table 1. Effect of different AVG treatments on the number of harvested and dropped fruits of ‘Premier’ peach

Treatment[z]	Fruit Harvested (no.)[y]				Fruit dropped (no.)[y]			
	May 15	May 22	May 29	Sum	May 15	May 22	May 29	Sum
I	4.0 b[x] (5.0%)	52.0 a (65.3%)	—	56.0 a (70.3%)	0.7 a (0.8%)	23.0 ab (28.9%)	—	23.7 ab (29.7%)
II	6.7 b (9.2%)	46.0 ab (63.2%)	2.0 a (2.8%)	54.7 a (75.2%)	1.0 a (1.4%)	14.3 ab (19.7%)	2.7 a (3.7%)	18.0 ab (24.8%)
III	5.3 b (7.2%)	53.3 a (72.4%)	0.7 a (0.9%)	59.3 a (80.5%)	1.0 a (1.4%)	12.3 b (16.7%)	1.0 a (1.4%)	14.3 b (19.5%)
IV	14.3 a (18.9%)	35.0 b (46.3%)	—	49.3 a (65.2%)	2.0 a (2.6%)	24.3 a (32.2%)	—	26.3 a (34.8%)

[z] Treatment I: whole canopy spraying after fruit bagging; II: bagging after fruit spraying; III: bagging after whole canopy spraying, and IV: untreated (bagging only).

[y] Data were average of fruits harvested from three single tree replications.

[x] Means in the same column followed by the same letter are not significantly different according to the least significant difference test (p=0.05). Percentage of total bearing number is listed in parenthesis.

表 2. AVG 不同處理方式對‘台農甜蜜’桃不同採收時期果實平均重量比較

Table 2. Comparison of ‘Premier’ peach fruit weight on three harvest dates after AVG treatments

Treatment[z]	Mean fruit weight (g)[y]		
	May 15	May 22	May 29
I	120.7±6.6 a[x]	102.8±1.7 b	—
II	118.8±5.1 a	116.3±2.2 a	86.5±7.5 a
III	109.9±4.9 a	99.7±1.5 b	86.3±4.3 a
IV	122.7±3.3 a	116.3±2.7 a	—

[z] Treatment I: whole canopy spraying after fruit bagging; II: bagging after fruit spraying; III: bagging after whole canopy spraying, and IV: untreated (bagging only).

[y] Data were average of fruits harvested from three single tree replications.

[x] Data are mean±SE. Mean separation within columns by LSD test at p=0.05.

表 3. AVG 不同處理方式對‘台農甜蜜’桃不同採收時期採收重量比較 [z]

Table 3. Comparison of ‘Premier’ peach harvest weight after AVG treatments [z]

	Harvest weight of treated fruit (g) [y]			
Treatment [z]	May 15	May 22	May 29	Total
I	483.0 b [x] (8.3%)	5347.7 a (91.7%)	—	5830.7 a (100%)
II	792.1 b (12.6%)	5348.7 a (84.7%)	172.9 a (2.7%)	6313.7 a (100%)
III	586.3 b (9.8%)	5317.4 a (89.2%)	57.5 a (1.0%)	5961.3 a (100%)
Ⅳ	1758.6 a (30.2%)	4072.0 a (69.8%)	—	5830.6 a (100%)

[z] Treatment I: whole canopy spraying after fruit bagging; II: bagging after fruit spraying; III: bagging after whole canopy spraying, and IV: untreated (bagging only).

[y] Data were average of fruits harvested from three single tree replications.

[x] Mean separation within columns by LSD test at P=0.05. Percentage of total harvest weight is listed in parenthesis.

不同處理三次不同採收期的果實重量加總，所得資料如表 3，於第一次採收時，對照組處理即已採收 30.2%之果實，與 AVG 處理者（處理Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ）有顯著差異，採收率高約 2 成左右。第二次採收時重量以處理Ⅱ最高 (5348.7 g)，其採收佔總重的 84.7%，但各處理間差異不顯著。第三次採收時僅有處理Ⅱ與處理Ⅲ果實處理有採收，採收重佔總重之 2.7%與 1.0%。總採收重各處理間無差異，處理Ⅱ較高，達 6313.7 g，處理Ⅰ與對照組較低。

在果實硬度方面，對照組果實於第一次採收時，硬度平均值為 6.5 kg/cm^2，所有的 AVG 處理皆能有效維持硬度，與對照組差異達到顯著水準，其中以處理Ⅱ硬度最高，達 10.5 kg/cm^2 （圖 1），第二次（5 月 22 日）採收果實，以藥劑有直接噴到果實處理者硬度較高，其中全株處理者與對照組差異達到顯著。第三次（5 月 29 日）採收時處理Ⅱ與Ⅲ採收果實硬度降至 4.4 kg/cm^2 至 5.8 kg/cm^2 之間，處理間無顯著差異。

在果實糖度方面，於第一次採收之處理Ⅱ (12.4°Brix)，與對照組 (11.4°Brix) 有明顯差異（圖 2）。第二次採收所有處理者，果實糖度皆高於對照組，且達顯著水準；第三次採收時，糖度以處理Ⅲ較高，處理間無顯著差異。在酸度的表現上，第一次採收時，AVG 會延遲果實酸度降低，處理Ⅰ與處理Ⅲ與對照組差異達到顯著，第二次採收之各噴藥處理與對照組差異並不顯著，第三次採收處理間無顯著差異（圖 3）。

討　論

‘台農甜蜜’ 桃於採收前 10 日（5 月 5 日）以 150 ppm AVG 進行 3 種處理後，於第一次採收期時，藥劑噴施處理者，其果實採收數目皆較未施藥處理（對照組）差異達到顯著，差異約佔總結果數的 9.7-13.9%，顯示有 AVG 之處理於果實採收初期有延遲果實成熟的效果。7 日後第二次採收時，AVG 處理者累計採收之比率皆已經較對照組 (65.2%) 為高，以全株噴灑採收到最多果實。第三次採收時處理Ⅱ與處理Ⅲ樹上仍有果實，顯示果實有 AVG 處理者，成熟期可延長 7 天（表 1）。由此可推論 AVG 在果實成熟前 10 天噴施，有延遲果實成熟的效果，且果實表面有直接噴灑藥劑

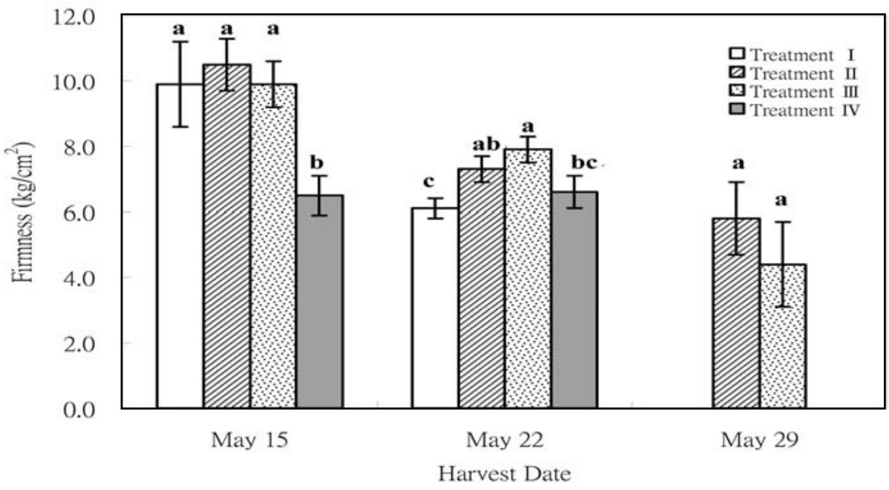

圖 1. AVG 不同處理方式對‘台農甜蜜’桃不同採收時期果實硬度比較。處理 I：套袋後噴全株；處理 II：噴果實後套袋；處理 III：噴全株後套袋；處理 IV：對照組（僅套袋）。字母不同表示處理間於 *P*=0.05 時有顯著差異。

Fig. 1. Flesh firmness of ‘premier’ peach after AVG treatments. Treatments were I: whole canopy spraying after fruit bagging, II:bagging after fruit spraying, III:bagging after whole canopy spraying, and IV: untreated (bagging only). Data are mean±SE. Different letters indicate significantly difference between treatments by LSD test at *P*=0.05.

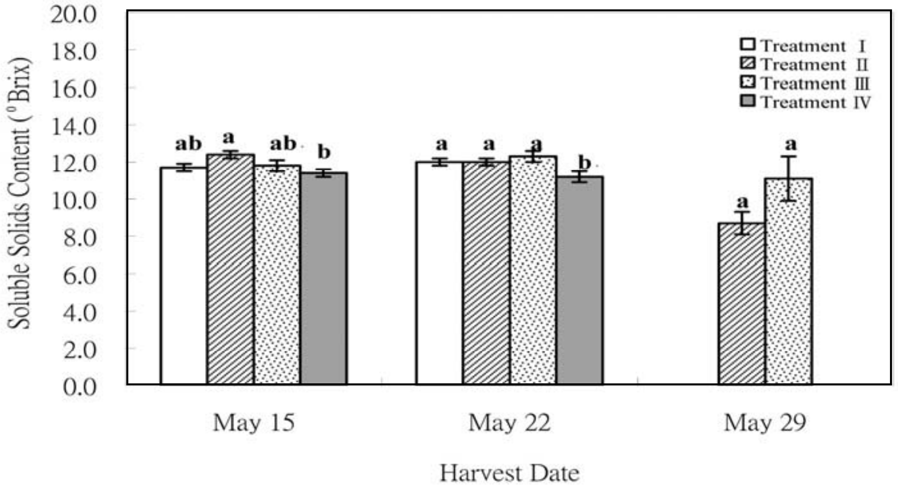

圖 2. AVG 不同處理方式對‘台農甜蜜’桃不同採收時期果實可溶性固形物含量比較。處理Ⅰ：套袋後噴全株；處理Ⅱ：噴果實後套袋；處理Ⅲ：噴全株後套袋；處理Ⅳ：對照組（僅套袋）。字母不同表示處理間於 *P*=0.05 時有顯著差異。

Fig. 2. Comparison on soluble solids content of ‘premier’ peach by different AVG treatments. Treatments were I:whole canopy spraying after fruit bagging, II:bagging after fruit spraying, III:bagging after whole canopy spraying, and IV: untreated (bagging only). Data are mean±SE. Different letters indicate significantly difference between treatments by LSD test at *P*=0.05.

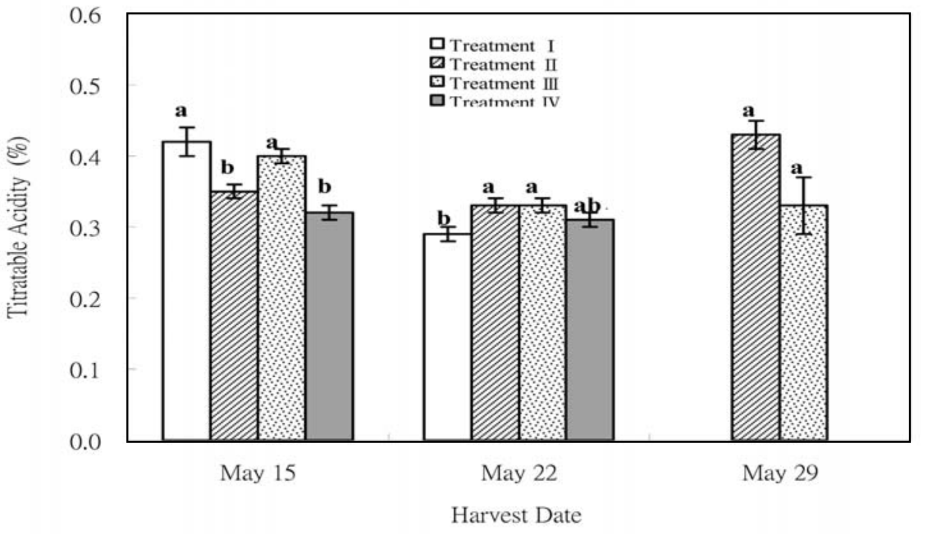

圖 3. AVG 不同處理方式對‘台農甜蜜’桃不同採收時期果實可滴定酸含量比較。處理 I：套袋後噴全株；處理 II：噴果實後套袋；處理 III：噴全株後套袋；處理 IV：對照組（僅套袋）。字母不同表示處理間於 *P*=0.05 時有顯著差異。

Fig. 3. Comparison on titratable acidity of ‘premier’ peach by different AVG treatments. Treatments were I: whole canopy spraying after fruit bagging, II:bagging after fruit spraying, III:bagging after whole canopy spraying, and IV: untreated (bagging only). Data are mean±SE. Different letters indicate significantly difference between treatments by LSD test at *P*=0.05.

者，延遲採收之效果更為明顯，從而拉長採收期。據 Chalmers 與 van den Ende 1975 年之報導，桃果實生長可分為 S1 至 S4 共 4 個時期，果實直徑增加最快速發生在 S1 期，而 S4 期為果實快速肥大增重最明顯的時期。乙烯生成量於 S1 期極低，且維持水平於 S2、S3 期，在果實生長進入 S4 期後一段時間，乙烯生成速率會大幅上升，促使果實硬度變軟，開始進行後熟作用，達到生理成熟，此時硬度約為 30N (=3 kg/cm^2)，為果實最適合食用之階段 (Tonutti *et al*. 1997)。Bregoli 等 (2002) 研究結果發現桃於果實進入 S4 期前，使用 AVG 可有效降低乙烯生成量，延緩果實後熟速率。Ju 等 (1999) 亦報導‘肥城桃’於採收前 14 天噴施 150 mg/L AVG，可延遲 4%果實晚 7 天採收，總採收期亦由 8 天延長到 15 天。Li 等 (2006) 於 ‘肥城桃’ 採收前 10 日處理 1.5 g/L AVG，亦可延後採收期 5 天。故本試驗於預定開始採收前 10 天噴施 AVG 之處理，推測有降低乙烯生成量的效果，從而延遲果實成熟，拉長採收期。

據文獻指出，AVG 處理可有效延後桃果實採收時間 3-7 天不等 (Belding & Lokaj 2002; Cline 2006; Kim *et al*. 2004; Singh *et al*. 2003)，然而對某些品種如 ‘Encore’、‘Elegant Lady’ 與‘Zee Lady’ 則無效果 (Belding & Lokaj 2002; Singh *et al*. 2003)。在本試驗中，‘台農甜蜜’ 桃於處理後 10 天第一次採收（5 月 15 日）時 ，處理 I 可延遲 15.7%果實成熟（表 1），若換算成採收重量則減少 1275.6 g（表 3），顯示藥劑有效期間 10 天內很顯著。處理後 17 日即第二次採收（5 月 22 日），對照組及僅

處理葉片的處理Ⅰ已採收完畢，果實有噴到藥劑的處理Ⅱ及處理Ⅲ分別能延後 6.5%及 2.3%的果實成熟（表 1）。顯示果實有噴到藥劑的處理，其藥效較爲持久，可能與果實吸收藥劑的量有關。

Li 等 (2006) 之研究顯示 AVG 處理可降低‘肥城桃’15.2%落果率，其餘品種如‘Mibaekdo’試驗亦指出有 18.9%落果率降低之效果 (Kim *et al*. 2004)，但對‘Venture’、‘Babygold 7’則無改善，顯示 AVG 功效會因品種不同而有所差異。本試驗‘台農甜蜜’桃果實落果高峰期出現於第二次採收時，對照組落果率佔總結果量之 32.2%，處理Ⅰ由於紙袋阻隔果實對 AVG 之吸收，落果率較對照組僅降低 3.3%，產期總落果量可降低 5.1%；處理Ⅱ與處理Ⅲ落果率則可降低 12.5%至 15.5%，產期總落果率可降低 10%至 15.3%。於數據上看來，處理Ⅲ似乎有累加效應，等同於處理Ⅰ與處理Ⅱ降低效果之和，顯示 AVG 有減低桃果實落果率的效果，以全株噴灑較單獨噴葉片或果實更爲有效。

‘台農甜蜜’桃於本試驗第一次採收各處理間平均果重分佈於 110-120 g 間，處理間無顯著差異（表 2）；第二次採收與第三次採收皆看不出 AVG 處理對果實大小的影響。‘台農甜蜜’桃 (‘Premier’)，原產巴西，低需冷量 (150 低溫單位，Chill unit, CU)、容易著果、高糖、低酸、風味佳、品質好，生育良好，爲台灣平地桃的商業栽培種之一，其果實發育日數 96-99 天，平均果重 91.3 g (Ou *et al*. 2005)。一般而言，採收果實重量會有後期果重較輕之現象。本試驗所選用之果園，農友採網室集約經營管理，果實疏果作業徹底執行，著果量控制恰當，果實充分發育，果實大小皆超過一般平均水準（表 2）。另少數供試枝條自然枯萎，或套袋脫落，以致採果數與落果數達不到 3 重複 240 個果實的總數目。

以果實重量加總之總產量來看，處理Ⅱ產量最高，較對照組多出 483.1 g，相當於減少 8%產量損失，此一貢獻因素推因於減低落果數。由於處理Ⅱ與對照組相比可降低 10% 落果率，減少果實於採收前落果，從而增加總採收重量。

桃果實伴隨乙烯生成，會有果實硬度下降之現象，據文獻報告 AVG 處理可增加‘肥城桃’、‘Encore’、‘Redheaven’、‘Biscoe’、‘Venture’之硬度 1.1-2.7 kg/cm^2 (Li *et al*. 2006；Belding & Lokaj 2002；Cline 2006；Vizzotto *et al*. 2002)，效果最好者爲‘O’Henry’，可增加硬度 5.2 kg/cm^2 (Singh *et al*. 2003)。此效果在其他果樹如蘋果也有報導 (Greene 2005)。本試驗第一次採收時，對照組果實平均硬度爲 6.5 kg/cm^2，據調查資料顯示，其中有 48.8%果實已軟化進行後熟作用，硬度降至 3.0 kg/cm^2 以下，已達到最佳食用狀態，此一情形表示第一次採收日期之推斷較實際成熟日期爲晚，果實已有將近一半進入軟熟期。相較於對照組，AVG 處理可有效提升此階段果實硬度 3.0-4.0 kg/cm^2，然進入第二次採收時則效果較不明顯，僅全株噴灑與對照組有顯著差異，可提升硬度 1.3 kg/cm^2（圖 1）。由此可見 AVG 有維持果實硬度的作用，於處理後 10 天可達到最佳效果。

AVG 對果實品質之影響眾說紛紜，Cline (2006) 認爲對‘Venture’桃沒有顯著影響，Rath 與 Prentice (2004) 在‘Arctic Snow’油桃的試驗觀察到果實愈大糖度愈高，但 AVG 處理不會增加糖度；Kim 等 (2004) 在‘Mibaekdo’桃則發現有糖度增高與酸度下降之情形；‘肥城桃’、‘Redheaven’、‘O’Henry’與‘Summerset’果實糖度與酸度都有同時增高的現象 (Vizzotto *et al*. 2002；Singh *et al*. 2003；Li *et al*. 2006) 。本試驗‘台農甜蜜’桃以 AVG 處理，於第一次與第二次採收有提高果實糖度的效果，第三次採收前於 5 月 28 日開始下雨，可能因此導致第三次採收時糖度下降（圖 2）。果實於第一次與第二次採收期（處理Ⅰ除外）有酸度較高的現象，第三次採收時果實仍維持有一定之酸度（圖 3），但僅在第一次採收的處理Ⅰ及處理Ⅲ與對照組有顯著差異，此可能因爲‘台農甜蜜’桃原本就屬低酸品種，故以 AVG 處理，效果無法顯現。

由試驗結果顯示，AVG 僅噴灑於葉面於採收初期對延遲果實成熟、降低落果率與增加果實硬度上確實有效，但其效果較短，無法延續至第二次採收（處理後 17 天）；AVG 藥劑需接觸到果實表面，才能發揮最大效用，其成效顯示在於處理後 17 天仍能延遲 6.5%果實成熟與提升硬度 1.3 kg/cm^2 （表 1、圖 1）。

AVG 在更年性果實上的效用，一般認爲是由於果皮表面直接吸收所造成之乙烯抑制作用，然而 Rath 等 (2006) 對蘋果研究發現全株噴施已套袋蘋果亦非常有效，亦即從葉面吸收之 AVG 可抑制蘋果果實乙烯生成，達到降低落果率之效果；本試驗結果亦顯示葉面噴灑 AVG 可於採收初期延遲果實成熟（表 1、圖 2）。

整體而言，在果實品質上，所有 AVG 處理在噴施後 10 天可提升採收時之果實硬度 4.0 kg/cm^2；果實糖度則可提高 1°Brix，效果可延續至噴施後 17 天。以 150 ppm AVG 於採收前 10 天處理台農甜蜜桃，可延緩採收初期果實的成熟速率，降低 15.3%總落果率與減少 8%採收總重量損失，並可延長 7 天採收期。產期之延長可舒緩採收時人手不足之現象，且具有短期調節市場的潛力；總產量的微幅提升對於大面積栽培整體成效應相當可觀，此仍有待大規模田間試驗評估。

誌　　謝

本研究承蒙台灣住友化學股份有限公司經費支持，劉明槵小姐、李淑敏小姐、李嘉原先生、黃子建先生協助果品分析與文書處理，技工林海生先生、劉慶良先生協助供試果園藥劑處理與採收作業，徐景星先生提供果園進行試驗並協助栽培管理，特表謝忱。

引用文獻 (Literature cited)

Belding, R. D. and G. R. W. Lokaj. 2002. Aminoethoxyvinylglycine treatment of peach fruit reduces ethylene production and softening. HortScience 37(7):1065-1068.

Bregoli, A. M., S. Scaramagli, G. Costa, E. Sabatini, V. Ziosi, S. Biondi, and P. Torrigiani. 2002. Peach *(Prunus persica)* fruit ripening: aminoethoxyvinylglycine (AVG) and exogenous polyamines affect ethylene emission and flesh firmness. Physiol. Plant 114(3):472-481.

Cecchi, F., D. DeSantis, T. Cardarelli, I. Marty, R. Botondi, and F. Mencarelli. 2001. Influence of propylene on glycosidases and volatiles in peach fruit. Acta Hort. 553:185-187.

Chalmers, D. J. and B. van den Ende. 1975. A reappraisal of the growth and development of peach fruit. Aust. J. Plant Physiol. 2:623-624.

Cline, J. A. 2006. Effect of aminoethoxyvinylglycine and surfactants on preharvest drop, maturity, and fruit quality of two processing peach cultivars. HortScience 41(2):377-383.

Fei, W. C. and Y. J. Wang. 2005. Plant Protection Manual. Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, Taichung. 817 pp. (in Chinese)

Greene, D. W. 2005. Time of aminoethoxyvinylglycine application influences preharvest drop and fruit quality of ‘McIntosh’ apples. HortScience 40(7):2056-2060.

Ju, Z. G., Y. S. Duan, and Z. Q. Ju. 1999. Combinations of GA_3 and AVG delay fruit maturation, increase fruit size and improve storage life of ‘Feicheng’ peaches. J. Hort. Sci. Biotech. 74(5):579-583.

Kim, I. S., C. D. Choi, H. J. Lee, and J. K. Byun. 2004. Effects of aminoethoxyvinylglycine on preharvest drop and fruit quality of ‘Mibaekdo’ peaches. Acta Hort. 653:173-178.

Li, F., X. H. Zhang, and X. Y. Wang. 2006. Effects of AVG on qualities of Feicheng peach pre-harvest and on ethylene synthesis during storage. Trans. Chinese Soc. Agric. Mach. 37(2):76-79.

Ou, S. K., C. W. Song, C. C. Huang, and M. H. Liu. 2006. Changes in flesh firmness and ethylene production of different peach types during fruit ripening. J. Taiwan Soc. Hort. Sci. 52:131-138. (in Chinese with English abstract)

Ou, S. K., C. W. Song, and H. Y. Lu. 2005. Genetic analysis of fruit characteristics in hybrids of ‘Premier’ peach. J. Chinese Soc. Hort. Sci. 51:145-154. (in Chinese with English abstract)

Pratt, H. K. and J. D. Goeschl. 1969. Physiological roles of ethylene in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. 20:541-584.

Rath, A. C., I. K. Kang, C. H. Park, W. J. Yoo, and J. K. Byun. 2006. Foliar application of aminoethoxyvinylglycine (AVG) delays fruit ripening and reduces pre-harvest fruit drop and ethylene production of bagged ‘Kogetsu’ apples. Plant Growth Regul. 50:91-100.

Rath, A. C. and A. J. Prentice. 2004. Yield increase and higher flesh firmness of ‘Arctic Snow’ nectarines both at harvest in Australia and after export to Taiwan following pre-harvest application of ReTain plant growth regulator (aminoethoxyvinylglycine, AVG). Aust. J. Exp. Agric. 44:343-351.

Singh, Z., K. Kennison, and V. Agrez. 2003. Regulation of fruit firmness, maturity and quality of late maturing cultivars of peach with preharvest application of ReTain. Acta Hort. 628(1):277-283.

Tonutti, P., C. Bonghi, and A. Ramina. 1996. Fruit firmness and ethylene biosynthesis in three cultivars of peach (*Prunus persica* L. Batsch). J. Hort. Sci. 71(1):141-147.

Tonutti, P., C. Bonghi, B. Ruperti, G. B. Tornielli, and A. Ramina. 1997. Ethylene evolution and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase gene expression during early development and ripening of peach fruit. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 122(5):642-647.

Vizzotto, G., E. Casatta, C. Bomben, A. M. Bregoli, E. Sabatini, and G. Costa. 2002. Peach ripening as affected by AVG. Acta Hort. 592:561-563.

Yang, S. F. and N. E. Hoffman. 1984. Ethylene biosynthesis in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. 35:155-189.

Yu, Y. B. and S. F. Yang. 1979. Auxin-induced ethylene production and its inhibition by aminoethoxyvinylglycine and cobalt ion. Plant Physiol. 64:1074-1077.

Effect of Different Spraying Treatments of Aminoethoxyvinylglycine (AVG) on Maturation, Preharvest Drop and Fruit Quality of 'Premier' Peach[1]

Ming-Te Lu[2], Chia-Wei Song[2] and Shyi-Kuan Ou[2,3]

Abstract

Lu, M. T., C. W. Song, and S. K. Ou. 2006. Effect of different spraying treatments of aminoethoxyvinylglycine (AVG) on maturation, preharvest drop, and fruit quality of 'Premier' peach. J. Taiwan Agric. Res. 56:11-20.

The ethylene production inhibitor aminoethoxyvinylglycine (AVG) was sprayed at 150 mg L^{-1} on fruits, leaves, or whole canopy of 'premier' peach (*Prunus persica* L. Batsch) trees 10 days prior harvest to test the effect of AVG on maturation, preharvest drop, and fruit quality. Fruits were harvested according to commercial standard maturation criteria of background color. Number of fruit harvested and dropped, fruit size, flesh firmness, and fruit quality were assessed on three harvest dates. All treatments effectively delayed fruit maturation, lowered fruit drop, and increased flesh firmness at first harvest date. Whole canopy spraying delayed 11.7% of harvest fruit number at first harvest date and postponed fruit ripening for 7 days so that fruit could be harvested for 15 days. Throughout the harvest period, whole canopy spraying resulted in a 15.3% decrease in fruit drop but was not significant on fruit size and harvest weight.Within 10 days of all AVG treatments, fruits were much firmer (4.0 kg/cm^2) than control. In addition, these AVG-treated fruits also showed higher soluble solid content (1°Brix) than control and could last for 17 days after treatments.

Key words: *Prunus persica*, Aminoethoxyvinylglycine, Harvest time, Fruit firmness.

1.Contribution No. 2276 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: January 15, 2007.

2.Assistant, Assistant Horticulturist, and Senior Horticulturist, respectively, Crop Science Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.

3.Corresponding author, e-mail: skou@wufeng.tari.gov.tw; Fax: (04)23399544.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 56(1):21~30 (2007)

丹參組織培養苗馴化處理及其植株丹參酮含量分析[1]

陳威臣[2]　曹進義[2]　夏奇鈮[2,3]

摘　要

陳威臣、曹進義、夏奇鈮。2007。丹參組織培養苗馴化處理及其植株丹參酮含量分析。台灣農業研究 56:21-30。

本研究探討吲哚丁酸 (indole-3-butyric acid; IBA) 對丹參 (*Salvia miltiorrhiza*) 組培芽體 (*in vitro* shoot) 發根之影響，以及培養容器封口透氣資材與馴化條件對組培苗移植存活率關係，並分析成株丹參酮之含量。組培芽體於添加 0.5 mg L^{-1} IBA 之半量 Murashige and Skoog 基本鹽類 (1/2MS) 培養基，利用鋁箔紙封口培養 2 週後，再以三層藥包紙進行封口置換處理 (AF2+DP4) ，其發根率可達 90%。將組培苗 (plantlet) 移植於已滅菌之 BioMix 培養土：蛭石：珍珠石 = 1：1：1 (v/v) 混合介質，再以透明塑膠袋覆蓋植株培養於日夜溫為 22℃，10h / 18℃，14h、光照強度約 60 μmol m^{-2} s^{-1} 之生長箱進行馴化處理，透氣預處理組培苗存活率可達 80.1%，較持續以鋁箔紙封口培養前處理組培苗存活率則只有 27.8%。此外，經由高效率液相層析儀 (high performance liquid chromatography；HPLC) 分析丹參各檢品之丹參酮類 (tanshinones): tanshinone-I (Tan-I), tanshinone-IIA (Tan-IIA), cryptotanshinone (Crypto) 含量結果顯示，組培苗經田間栽植 9 個月後植株根部（紅根）之 Tan-I＋Tan-IIA＋Crypto 總含量約 1.85 mg g^{-1} dw，為市售丹參藥材的 1.5 倍。

關鍵詞：丹參、藥用植物、微體繁殖、高壓液相層析、二次代謝物。

前　言

丹參 (*Salvia miltiorrhiza*) 為唇形科 (Labiatae) 鼠尾草屬 (*Salvia*) 多年生草本植物，根為磚紅色圓柱形，其乾燥根具有活血化瘀之功效，是治療心血管疾病的之重要中藥，被列為神農本草經上品。丹參主要成分包括脂溶性二萜類丹參酮 I (tanshinone-I；Tan-I)、丹參酮ⅡA (tanshinone-IIA；Tan-IIA) 及隱丹參酮 (cryptotanshinone; Crypto)；現代藥理研究證實丹參具有保護心肌缺血及缺氧、改善微循環、抑制血小板聚集和血栓形成及抗菌消炎等作用，尤其對於冠心病與心絞痛具有良好的療效，同時也被用於治療慢性肝炎與肝硬化等肝病變，更具有抑制肝癌細胞生長的功效 (Hu *et al*. 1999; Park *et al*. 1999)。此外，Wu *et al*. (1998) 亦指出丹參具有抗氧化、降膽固醇和預防動脈硬化效果，其臨床治療上的潛能不容忽視。近來植物藥材在美國、印度與巴西均被檢驗出有重金屬污染與農藥殘毒等問題 (Saper *et al*. 2004; Caldas & Machado 2004)，各國政府因而紛紛針對中藥實施層層把關，包括檢驗重金屬污染、農藥殘毒與細菌感染等，以維護大眾使用中藥的安全性。目前丹

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2277 號。接受日期：2007 年 1 月 25 日。
2. 本所生技組助理研究員、聘用人員與副研究員。台灣省 台中縣 霧峰鄉。
3. 通訊作者，電子郵件： hsia@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23302806。

參市場所需藥材皆仰賴中國進口，近年來其野生資源逐漸減少，雖可利用種子，分根、蘆頭或扦插等方法進行丹參種苗繁殖栽培，然各地藥材品質多參差不齊，更有僞劣品充斥市場的現象 (Guo *et al.* 2002)。利用植物組織培養技術不僅可縮短繁殖與栽培時間，生產之種苗更具有一致性的優點，而且組織培養技術於人爲環境的控制下，可進一步運用科學方法提高代謝物之品質和產量 (Song *et al.* 1998)。Chen *et al.* (2005) 已成功利用組織培養技術大量繁殖丹參組培芽體；但組培芽體發根及組培苗馴化的方法則未見報導。本研究利用吲哚丁酸與改善培養容器封口以促進丹參組培芽體發根與組培苗馴化存活率，並藉由 HPLC 方法檢測及比較組培苗田間栽種植株與市售丹參藥材之丹參酮含量，評估臺灣利用組培技術生產大量種苗用以自產丹參藥材的可行性。

材料與方法

供試材料與培養基

本研究採用之丹參 (*Salvia miltiorrhiza*) 植株由中國醫藥大學陳忠川教授提供、鑑定，栽培於行政院農委會農業試驗所。依據 Chen *et al.* (2005) 方法，利用丹參莖節腋芽作爲培殖體，培養於含有適量苄氨基嘌呤 (6-benzyladenine; BA) 與奈乙酸 (α-naphthileneacetic acid ; NAA) 之 MS 培養基中，可成功地誘導叢生芽體形成及建立初代無菌組培芽體以作爲下列試驗之用。本研究主要利用半量 MS (Murashige & Skoog 1962) 無機鹽類及其全量有機成分爲基本配方 (1/2MS)，分別添加不同濃度植物生長調節劑，加入凝膠物質 (Difco Bacto-agar) 前先以 0.1~1 N NaOH 及 HCl 將 pH 值調至 5.7±0.1，再以 121℃、15 lb in^{-2} (1.05kg cm^{-2}) 進行高溫高壓滅菌 15 min 後冷卻備用。

IBA 對丹参組培芽體發根之影響

利用高約 1.5-2 cm 之丹參組培芽體於添加不同濃度 IBA (0、0.25、0.5 及 1 mg L^{-1}) 之 1/2 MS 固態培養基，置於 25±1℃恆溫、照光 (約 38 umol m^{-2} s^{-1}) 16 小時之環境，經培養 4 週後調查組培苗發根率與根數。

培養容器透氣性封口對丹参組培芽體發根之影響

利用高約 1.5-2 cm 之丹參組培芽體於內含 25 mL 培養基之 125 mL 三角瓶（Pyrex，日本）中，培養基爲 1/2MS 基本配方添加 0.5 mg L^{-1} IBA，三角瓶分別以兩層鋁箔紙 (aluminum foil; AF) 或 3 層藥包紙（9.5 × 9.5 × 0.046 cm，氣體流速 0.5 mL s^{-1}，正隆，臺灣）(dispense paper; DP) 作爲封口之用。對照組全程 6 週均以兩層鋁箔紙作爲容器封口 (AF6)，處理組則是於鋁箔紙封口培養 2 週後，以三層藥包紙置換，再經 4 週培養 (AF2+ DP4)。在接種培養 6 週後調查芽體數、組培苗發根率與根數。

丹参組培苗之移植馴化處理

將上述試驗已發根之丹參組培苗（高約 5-6 cm）出瓶，利用自來水洗淨根部附著之培養基，並用稀釋 1000 倍免賴得 (Benomyl, 50% WP, Du Pont Co.) 消毒浸泡 30 分鐘後，除去部分葉片後移植於直徑 9 cm 黑色塑膠盆，盆內爲已滅菌且充分濕潤之 BioMix 培養土：蛭石：珍珠石 = 1：1：1 (v/v) 混合介質。將種有組培苗之塑膠盆以透明塑膠袋覆蓋保持濕度，置入日、夜溫爲 22℃，10h / 18℃，14 h，與光強度約 60 umol $m^{-2}s^{-1}$ 之生長箱進行馴化，四星期後移出至室溫下培養並調查存活率。每處理 4 重複，每重複移植 6 株組培苗。成活植株於室外環境盆栽 3 個月後移至農試所田間栽培，丹參植株於田間生長達 6 個月後，收穫地上部與根部，供做後續丹參酮含量分析之用。

丹參酮之含量測定

丹參酮類 (tanshinones) 含量測定係利用高效液相層析 (HPLC) 法，採用沃特斯公司相關儀器設備（Waters，美國）；層析管柱 A：RP-18, Inertsil ODS-3 (5 μm，4.6 × 33 mm)（GL Sciences Inc.，日本）；層析管柱 B：RP-18, Inertsil ODS-3 (5 μm，4.6 × 250 mm)（GL Sciences Inc.，日本）。分析方法修改自 Chen *et al.* (1997)，在 30℃控溫條件下，以 Methanol：Tetrahydrofuran：Glacial Acetic Acid：H_2O = 21.5：37.5：1：40 (v/v) 爲移動相 (mobile phase)，流速 1 mL min^{-1}，檢測波長爲 254 nm。標準品丹參酮 I (Tan-I)、丹參酮ⅡA (Tan-IIA) 與隱丹參酮 (Crypto) 購自九鼎生物科技公司，標準溶液配製濃度爲 100、80、60、40 及 20 mg L^{-1}，並以 0.45 μm 濾膜過濾備用。在上述的層析條件下每次注射 10 μl 進行測定，每個濃度重複 3 次，再以成分濃度爲橫座標，鋒面積爲縱座標，求得線性迴歸方程式及決定係數 (coefficient of determination; R^2)。丹參檢品包括市售藥材（購自彰化縣員林鎮）與組培苗移植栽培於農業試驗所田間 6 個月之植株地上部與根部，其中根部並依其外觀顏色分爲紅根及白根分別檢測。丹參檢品先以 50℃ 烘箱烘乾 48 hr，乾燥檢品取出研碎後以適量 methanol 爲溶媒浸漬過夜，經超音波洗淨器震盪 20-30 min，過濾並收集濾液，殘渣再加溶媒重複萃取三次。將濾液混合以真空減壓濃縮機濃縮至完全乾燥，而後再以甲醇 (methanol; MeOH) 將其成分溶出且定量，再以 0.45 μm 濾膜過濾以供 HPLC 分析之用。各種丹參檢品注射 10 μl 檢品濾液、重複注射 3 次，依所得線性迴歸方程式推算檢品中 Tan-I、Tan-IIA 及 Crypto 的含量。

資料分析

本研究發根試驗之每處理爲 40 個組培芽體（每處理含 4 個重複，每重複含 10 個組培芽體）。培養容器封口試驗之每處理爲 60 個組培芽體（每處理含 4 個重複，每重複含 15 個組培芽體）。馴化試驗每處理均爲 36 株組培組培苗（每處理含 4 個重複，每重複含 9 株組培苗）；試驗所得資料經 SAS 8.2 (SAS Institute Inc. 2001) 套裝統計分析軟體進行 ANOVA 變方分析，若處理間差異顯著，則利用 Least significant difference (LSD) test 比較各處理平均值間差異。

結　　果

IBA 對丹參組培芽體發根之影響

利用丹參組培芽體進行發根試驗結果如表 1 所示，添加 IBA 顯著促進丹參組培芽體不定根發生率及增加不定根數目。其中以添加 0.5 mgL^{-1} IBA 處理可達較高發根率 (75%) 及較多根數（4.8 條/組培苗），且其根系發育也較爲粗壯（圖 1A）。雖然 1 mgL^{-1} IBA 處理之根數亦達 4.5 條/組培苗，但其發根率下降至 65%。因此後續均以添加 0.5 mgL^{-1} IBA 之 1/2MS 培養基進行組培芽體發根培養。

培養容器封口資材對丹參組培芽體生長、不定根形成及組培苗移植成活率之影響

利用藥包紙置換鋁箔紙作爲培養容器封口試驗結果顯示，容器封口置換對組培苗數之增減並無顯著差異（表 2），但可提高組培芽體發根率 (90%)，對照組 (AF6) 之發根率僅 76.7%；就根數而言，AF2+DP4 處理之 4.4 條/組培苗亦較 AF6 處理之 3.1 條/培植體爲高，兩種發根指標均達顯著差異（表 2）。觀察植株外觀結果顯示，藉由透氣性封口處理 (AF2+DP4) 組培苗具有較大葉片且健壯之生長勢（圖 1B）。

表 1. 吲哚丁酸 (IBA) 濃度對丹參組培芽體發根之影響

Table 1. Influence of indole-3-butyric acid (IBA) on root formation in *in vitro* shoot of *Salvia miltiorrhiza* [z]

IBA (mgL^{-1})	Rooting (%) [x]	Roots per shoot [y]
0	37.5± 6.3 d	2.9 ± 0.36 c
0.25	52.5±11.1 c	3.8 ± 0.48 b
0.5	75.0± 5.0 a	4.8 ± 0.35 a
1	65.0± 2.9 b	4.5 ± 0.24 a

[z] Twenty shoots per treatment were tested and the data was collected after 4 wks of culture. Means ± SE within a column followed by the same letters are not significantly different at the 5% level by LSD test.

表 2. 培養容器封口對丹參組培芽體發根與組培苗移植存活率之影響

Table 2. Influence of container closure on root formation in *in vitro* shoots and survival rate in plantlets of *Salvia miltiorrhiza* [z]

Treatment [y]	Shoots production	Rooting (%) [x]	Roots per shoot [x]	Survival rate (%) [w]
AF6	3.6 ± 0.4 a	76.7 ± 5.77 b	3.1 ± 0.25 b	27.8 ± 7.2 b
AF2＋DP4	3.5 ± 0.2 a	90.0 ± 4.30 a	4.4 ± 0.33 a	80.1 ± 5.3 a

[z] *In vitro* grown shoots (about 1.5 cm long) were cultured on half-strength MS medium containing 0.5 mgL^{-1} IBA and 3% sucrose for 6 wks. Means ± SE within a column followed by the same letters are not significantly different at the 5% level by LSD test.

[y] AF6: using 2 layers of aluminum foil as container closure for 6 weeks; AF2+DP4: Using 2 layers of aluminum foil as container closure for 2 wks, replacing with 3 layers of dispense papers for another 4 wks.

[x] Thirty-six shoots were tested per treatment and the data was collected after 4 wks of culture. Roots shorter than 0.5 cm in length were not scored.

[w] Survival rate was recorded 4 wks after transferring into potting mixed substance in growth chamber for acclimation.

將上述處理所得丹參組培苗出瓶上盆後，移入生長箱培養 4 週後調查存活率，結果顯示 AF2+DP4 處理之組培苗具有較高移植存活率 (80.1%)，而對照組 (AF6) 僅為 27.8%（表 2），且 AF6 處理組培苗外觀上顯得較為瘦弱。圖 1C 與 1D 分別顯示丹參組培苗出瓶種植 4 週與 12 週後植株之生長情形。而後將馴化成活且生長良好之丹參苗種植田間，植株於田間生長達 6 個月後，採收作為後續丹參酮類含量分析之用（圖 1E-F）。

丹參檢品之丹參酮含量分析

利用丹參酮類 (Tan-I、Tan-IIA 與 Crypto) 標準品溶液，進行 HPLC 定性與定量分析，結果顯示三種成分之檢量線性方程式決定係數 (R^2) 均達 0.95 以上，三者滯留時間 (retention time；RT) 分別約於 13.6、22.5 與 11.4 min (表 3)。在丹參各檢品中以組培苗於田間栽培後植株之紅根所含 Tan-I+Tan-IIA+Crypto 較高，可達 1.85 mg g^{-1} dw，是丹參市場品含量的 1.5 倍。此外，在白根中 Tan-I+Tan-IIA+Crypto 含量亦可達 0.92 mg g^{-1} dw。而組培苗於田間栽培後植株地上部僅測得 Tan-IIA，含量為 0.02 mg g^{-1} dw（表 4）。

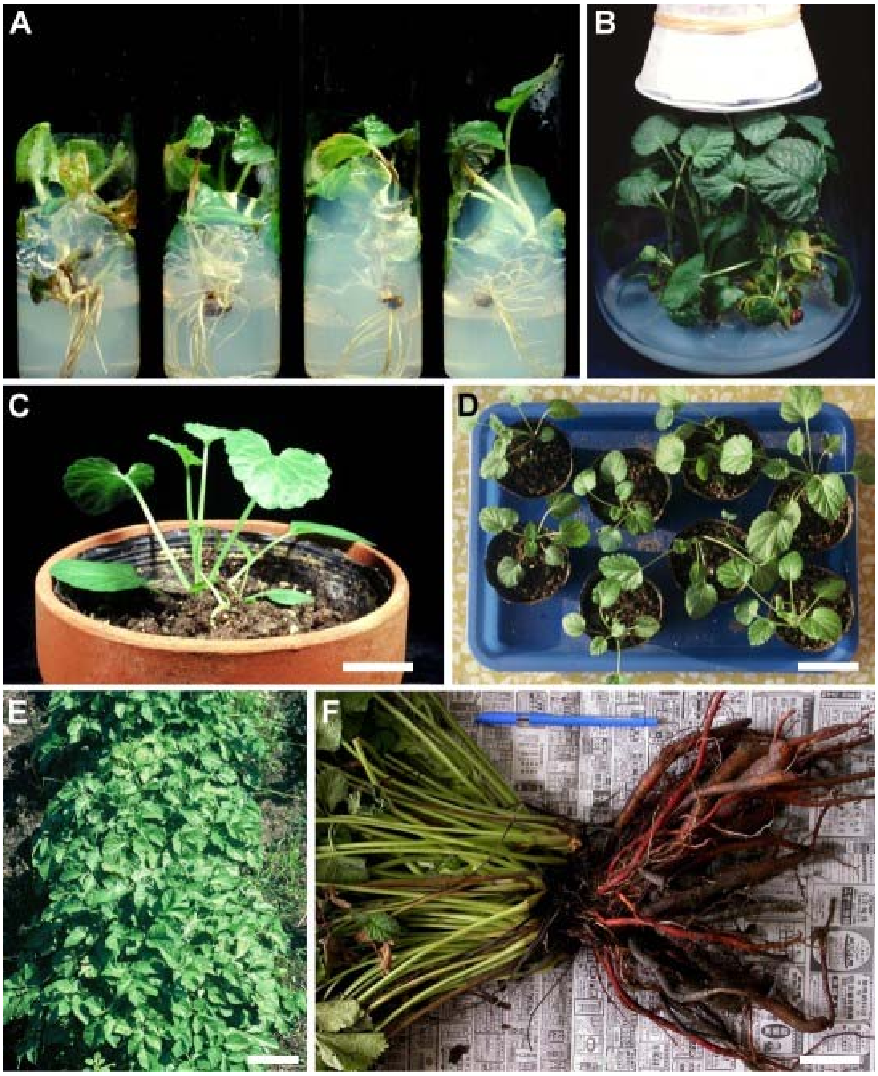

圖 1. 丹參組培芽體發根與組培苗移植馴化過程中之植株生長情形。丹參組培芽體於添加 0.5 mg L^{-1}與 1 mg L^{-1} IBA 之 1/2MS 基本培養基 4 週後之發根情形 (A)；組培芽體培養於添加 0.5 mgL^{-1} IBA 之 1/2MS 基本培養基，配合培養容器封口置換處理 (AF2+DP4) 達 6 週後，生長良好之發根組培苗 (B)；移植馴化處理 4 週，Bar = 2 cm (C)與 12 週，Bar = 5 cm (D) 後之丹參植株生長情形；丹參植株於農業試驗所田間達 6 個月之生長情形，Bar = 10 cm (E)；與採收時植株之地上部與根部，Bar = 5 cm (F)。

Fig. 1. *In vitro* shoots rooting and *ex vitro* plantlets acclimation of *Salvia miltiorrhiza* plantlets in field. Rooting of *in vitro* shoots of *Salvia miltiorrhiza* after culture on half-strength MS medium containing 1 or 0.5 mg L^{-1} IBA for 6 wks (A); Plantlets, on half-strength MS medium containing 0.5 mg L^{-1} IBA, containers capped with 2 layers of aluminum foil for 2 wks (AF2) then replaced by 3 layers of dispense paper for 4 wks (DP4) (total 6 wks incubation) (B); then acclimatized for 4 wks (C), Bar = 2 cm and 12 wks (D), Bar = 5 cm. Micropropagated plants of *Salvia miltiorrhiza* growing at the Institute farm for six months (E), Bar = 10 cm; and the aerial and root parts of harvested plants (F), Bar = 5 cm.

表 3. 丹參酮類標準品迴歸檢量方程式、決定係數與其滯留時間

Table 3. The linear equation, coefficient of determination (R^2), and retention time of tanshinones analysis by RP-HPLC method [z]

Tanshinones	Liner equation	R^2	Retention time (min)
Tanshinone I	$y = 3.00 \times 10^7 x + 1.99 \times 10^5$	0.949	13.63 ± 0.009
Tanshinone IIA	$y = 3.73 \times 10^7 x - 2.10 \times 10^4$	0.995	22.47 ± 0.022
Cryptotanshinone	$y = 3.17 \times 10^7 x - 1.58 \times 10^3$	0.996	11.38 ± 0.006

[z] Samples were separated by C18 column with methanol: tetrahydrofuran: glacial acetic acid: H_2O = 21.5: 37.5: 1: 40 (v/v) as mobile phase.

表 4、丹參組培苗田間栽培植株地上部與根部及丹參市場品之丹參酮類含量分析

Table 4. Tanshinones content of aerial parts and roots derived from field-grew *in vitro* micropropagated plant of *Salvia miltiorrhiza* and Radix Salvia (market product, roots of *Salvia miltiorrhiza*) [z]

Samples	Tanshinones content (mg g^{-1} dry wt) [z]			
	Tan I	Tan IIA	Crypto	Sum
Field grown plant				
Aerial part	*nd*	0.02 ± 0.002	*nd*	0.02
White roots	0.45 ± 0.025	0.18 ± 0.012	0.29 ± 0.115	0.92
Red roots	1.45 ± 0.020	0.27 ± 0.001	0.13 ± 0.021	1.85
Radix Salvia	0.39 ± 0.017	0.44 ± 0.017	0.37 ± 0.017	1.20

[z] Field-grew *in vitro* micropropagated plant of *Salvia miltiorrhiza* which had grown in pot for 3 months and following 6 months of culture in field.

[y] Three injections (10 μl each) were tested for each sample. Means (Mean ± SE) within a column followed by the same letters were not significantly different at the 5% level by LSD test. *nd* = not detected.

討　論

近年來，利用組織培養技術已成功大量繁殖許多重要藥用植物組培苗，例如人參、黃耆、柴胡、當歸、紅豆杉、白芷、金線連等 (Nalawade *et al.* 2003; Nalawade & Tsay 2004; Sagare *et al.* 2000)。Chen *et al.* (2005) 利用丹參莖節腋芽部位已建立丹參大量繁殖組培芽體，且利用改善封口透氣性解決芽體玻璃質化問題，惟組培苗往往由於移植存活率低，造成實際應用的諸多限制。本研究藉由調整培養基之 IBA 濃度以促進組培芽體發根，並在芽體發根階段利用透氣性封口降低瓶內相對溼度以提高組培苗品質及移植存活率，成功地建立適合於丹參組培芽體發根與組培苗移植馴化之方法；此外，利用 HPLC 分析組培苗田間栽植植株與市售丹參藥材之丹參酮含量，證明組培苗作為生產丹參藥材之可行性。

組織培養繁殖研究常以 IAA、NAA 或 IBA 作為促進組培芽體發根之植物生長調節劑，其中又以 IBA 與 NAA 之效果較佳 (Gaspar *et al.* 1996; George 1993; Moncousin 1991)。在甜菊 (*Stevia*

rebaudiana) (Sivaram & Mukundan 2003) 組培芽體發根研究中顯示出，IBA 具有促進芽體發根的效果，且濃度愈高效果愈佳。Sahoo & Chand (1998) 報導 1 mg L^{-1} IBA 對黃荊 (*Vitex negundo*) 組培芽體發根效果較佳，較高 (2 mg L^{-1}) 與較低 (0.5 mg L^{-1}) 濃度均不利其發根。此外，高氏柴胡 (*Bupleurum kaoi*) 組培芽體發根研究也顯示，0.5 mg L^{-1} IBA 處理之組培芽體基部並無癒合組織形成，且具有高發根率與根數 (Chen *et al*. 2004a；Chen *et al*. 2006b)。本研究結果顯示，0.5 mg L^{-1} IBA 處理對於丹參組培芽體發根之效果較佳 (表 1)，此結果與上述其他學者之研究結果相似，顯示適當 IBA 濃度有利於提高組培芽體的發根率與發根數。

組織培養大量繁殖技術已廣泛應用於種苗生產事業，但因部分玻璃質化組培苗馴化存活率的低下往往造成嚴重的成本負擔，雖然藉由一些化學與物理方法可抑制玻璃質苗形成或增進組培苗品質，但也可能導致組培苗繁殖倍率的降低 (Chen *et al*. 2004b; Pâques 1991; Tsay 1998)。其中利用高透氣性材質做為培養容器封口，係改善瓶苗品質之簡單且有效的方法，並已成功地應用於抑制康乃馨 (*Dianthus caryophyllus*) (Chen *et al*. 1998) 與玄參 (*Scrophularia yoshimurae*) (Lai *et al*. 2005) 組培芽體玻璃質化現象。此外，高氏柴胡 (Chen *et al*. 2004a; Chen *et al*. 2006b) 與玄參 (Chen *et al*. 2006a) 組培芽體利用透氣性培養容器封口之研究亦有相似的結果，不僅不影響組培芽體繁殖倍率且可提高其組培苗移植存活率；藉由掃描式電子顯微鏡 (scanning electron microscope；SEM) 觀察組培芽體與組培苗葉片結果顯示，氣孔功能正常與否與表皮蠟質累積多寡是影響移植存活率高低的主要因子之一。本研究結果同樣指出，丹參組培芽體經培養於含 0.5 mg L^{-1} IBA 之 1/2MS 培養基，在芽體發根培養階段藉由藥包紙進行 4 週透氣處理後並不影響芽體繁殖倍率，處理後之組培苗生長健壯且根系形成良好（圖 1B），具有較高之移植存活率（表 3）。

當組培苗於盆栽馴化 3 個月後，再將其移植田間栽培達 6 個月時，即可顯示丹參植株生長相當茂盛（圖 1E），採收後可發現其植株呈現特有的紅色根部（圖 1F），最大根部直徑達約 3.5 cm；經 HPLC 分析結果顯示其紅根之總丹參酮含量高於丹參市售藥材（表 4）。綜合以上結果顯示，田間栽培丹參組培苗可於較短栽培時間內達到相當含量丹參酮的藥材，若能配合優良農業操作生產體系 (good agricultural practice; GAP) 規範栽培生產，則可獲得優質的丹參原物料，有利於臺灣藥用植物產業之發展。

誌　　謝

本試驗研究承農委會農業生物技術國家型計畫經費補助 (91 農科-3.1.3-農-C1、92 農科-4.2.3-農-C1、93 農科-4.2.1-糧-Z1)，以及朝陽科技大學博士後研究 Dinesh Chandra Agrawal 博士於文稿英文部分之潤飾，特此申謝。

引用文獻 (Literature cited)

Caldas, E. D., and L. L. Machado. 2004. Cadmium, mercury and lead in medicinal herbs in Brazil. Food Chem. Toxicol. 42:599-603.

Chen, H., J. P. Yuan, F. Chen, Y. L. Zhang, and J. Y. Song. 1997. Tanshinone production in Ti-transformed *Salvia miltiorrhiza* cell suspension cultures. J. Biotech. 58:147-156.

Chen, U. C., C. N. Hsia, D. C. Agrawal, and H. S. Tsay. 2006a. Influence of ventilation closures on plant growth parameters, acclimation and anatomy of leaf surface in *Scrophularia yoshimurae* Yamazaki - a medicinal plant native to Taiwan. Bot. Studies 47:259-266.

Chen, U. C., C. N. Hsia, M. S. Yeh, and H. S. Tsay. 2004a. Influence of salts strength, sucrose, auxins and container closure on root formation and acclimation of *in vitro Bupleurum kaoi* plantlets. J. Agric. Res. China 53:249-260. (in Chinese with English abstract)

Chen, U. C., C. N. Hsia, M. S. Yeh, and H. S. Tsay. 2006b. *In vitro* micropropagation and *ex vitro* acclimation of *Bupleurum kaoi*- a native endangerous medicinal plant. *In Vitro* Cell. Dev. Biol. 42:128-133.

Chen, U. C., Y. J. Shiau, C. C. Lai, and H. S. Tsay. 1998. Effects of medium composition and vessel closure on the hyperhydricity and rooting of carnation *in vitro* culture. J. Agric. Res. China 47:346-376. (in Chinese with English abstract)

Chen, U. C., M. S. Yeh, and H. S. Tsay. 2004b. Studies on *in vitro* shoot multiplication of native medicinal herbs- *Bupleurum kaoi* Liu, Chao et Chuang by axillary bud culture. J. Agric. Res. China 53:27-38. (in Chinese with English abstract)

Chen, U. C., Y. J. Shiau, H. S. Tsay, and C. N. Hsia. 2005. Influence of cytokinin and ventilating container closure on shoot proliferation and hyperhydricity of *in vitro Salvia miltiorrhiza* culture. J. Agric. Res. China 54:93-102. (in Chinese with English abstract)

Gaspar, T., C. Kevers, C. Penel, H. Greppin, D. M. Reid, and T. A. Thorpe. 1996. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In Vitro* Cell. Dev. Biol. 32(P): 272-289.

George, E. F. 1993. Plant propagation by tissue culture, Part 1. The technology. England: Exegetics Ltd. 574 pp.

Guo, B. L., Y. X. Feng, and Y. J. Zhao. 2002. Review of germplasm resources studies on *Salvia miltiorriza*. China J. Chinese Materia Medica 27:492-495. (in Chinese with English abstract)

Hu, Z. B., D. Liu, and A. W. Alfermann. 1999. Genetic transformation of *Salvia miltiorrhiza*. p.249-260. *in*: Biotechnology in Agriculture and Forestry 45, Transgenetic Medical Plants (Bajaj, Y. P. S. ed.). Springer-Verlag, Berlin.

Lai, C. C., H. M. Lin, S. M. Nalawade, W. Fang, and H. S. Tsay. 2005. Hyperhydricity in shoot culture of *Scrophularia yoshimurae* can be effectively reduced by ventilation of culture vessels. J. Plant Physiol. 162:355-361.

Moncousin, Ch. 1991. Rooting of microcuttings: general aspects. Acta Hortic. 289:301-310.

Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473-497.

Nalawade, S. M., A. P. Sagare, C. Y. Lee, C. L. Kao, and H. S. Tsay. 2003. Studies on tissue culture of Chinese medicinal plant resources in Taiwan and their sustainable utilization. Bot. Bull. Acad. Sin. 44:79-98.

Nalawade, S. M., and H. S. Tsay. 2004. *In vitro* propagation of some important Chinese medicinal plants and their sustainable usage. *In Vitro* Cell. Dev. Biol. 40(P):143-154.

Pâques, M. 1991. Vitrification and micropropagation: causes, remedies and prospects. Acta Hortic. 289: 283-290.

Park, S., J. S. Song, D. K. Lee, and C. H. Yang. 1999. Suppression of AP-1 activity by tanshinone and cancer cell growth inhibition. Bull. Korean Chem. Soc. 20: 925-928.

Sagare, A. P., Y. L. Lee, and H. S. Tsay. 2000. Application of biotechnological tools in conservation and utilization of medical plant genetic resource. p.171-187. *in:* Proceedings Agriculture of the New Century: Managing Bio-research and Bio-diversity. (Wu, W. S., S. T. Chang, and B. T. Guan eds.) College of Agriculture, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.

Sahoo, Y. and P. K. Chand. 1998. Micropropagation of *Vitex negundo* L., a woody aromatic medicinal shrub, through high-frequence axillary shoot proliferation. Plant Cell Rep. 18:301-307.

Saper, R. B., S. N. Kales, J. Paquin, M. J. Burns, D. M. Eisenberg, R. B. Davis, and R. S. Phillips. 2004. Heavy Metal Content of Ayurvedic Herbal Medicine Products. Journal American Medical Association (JAMA) 292:2868-2873.

SAS Institute Inc. 2001. SAS/STAT User's Guide. Version 8.2, vol 2. SAS Inst., Cary, NC, USA. 943 pp.

Sivaram, L., and U. Mukundan. 2003. *In vitro* culture studies on *Stevia rebaudiana*. *In Vitro* Cell. Dev. Biol. 39(P):520-523.

Song, J. Y., Y. J. Zhang, and J. J. Qi. 1998. Biotechnology of *Salvia miltiorrhiza*. Natural Product Reseearch development 11:86-89. (in Chinese with English abstract)

Tsay, H. S. 1998. Effects of medium composition at different precultures on vitrification of carnation (*Dianthus caryophyllus*) in *in vitro* shoot proliferation. Acta Hortic. 461: 243-249.

Wu, Y. J., C. Y. Hong, S. J. Lin, and M. S. Shiao. 1998. Increase of vitamin E content in LDL and reduction of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits by a water-soluble antioxidant-rich fraction of *Salvia miltiorrhiza*. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 18:481-486.

In Vitro Plantlets Acclimation and Tanshinones Analysis of *Salvia Miltiorrhiza*[1]

Uei-Chern Chen [2], Chin-Yi Tsao [2] and Chi-Ni Hsia [2, 3]

Abstract

Chen, U. C., C. Y. Tsao, and C. N. Hsia. 2007. *In vitro* plantlets acclimation and tanshinones analysis of *Salvia miltiorrhiza*. J.Taiwan Agric. Res. 56:21-30.

An efficient micropropagation protocol for producing high quality plantlets that are easy to acclimatize in field was developed for *Salvia miltiorrhiza*. *In vitro* grown shoots induced rooting (90%) after culturing on half-strength Murashige and Skoog's basal medium (1/2MS) supplemented with 0.5 mg L^{-1} indole-3-butyric acid (IBA). Culture vessels were capped with aluminum foil for 2 weeks, and thereafter replaced with 3 layers of dispense paper for 4 weeks (AF2+DP4) were better than controls capped with aluminum foil for 6 weeks (AF6). Rooted shoots were transplanted into plastic pot containing a mixture of BioMix: vermiculite: perlite (1: 1: 1 ratio) (v/v). For acclimation, these pots were covered with transparent plastic bags and kept in a growth chamber under 14 h light at 22℃ and 10 h dark at 18℃ for 4 weeks. At 4 weeks of observation, these conditions resulted in the highest survival rate of 80.1% compared to AF6 treatment (27.8%). To compare, tanshinones contents (tanshinone-I, tanshinone-IIA and cryptotanshinone), the bioactive compounds in *Salvia miltiorrhiza* were estimated in the aerial parts and roots between *in vitro* micropropagated plants and market crude drug of *S. miltiorrhiza* by high performance liquid chromatography (HPLC). The quantity of tanshinones in red roots of *in vitro* micropropagated plants was measured as 1.85 mg g^{-1} dw about 1.5-fold higher than market crude drug.

Key Words: Danshen, Medicinal plant, Micropropagation, High performance liquid hromatography (HPLC), Secondary metabolite.

---

1. Contribution No. 2277 from Agricultural Research Institute (ARI), Council of Agriculture. Accepted January 25, 2007.
2. Assistant Agronomist, Contract Employees and Associate Researcher, Agronomy Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Corresponding author, e-mail: hsia@wufeng.tari.gov.tw; Fax: (04)23302806.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 56(1):31-44 (2007)

氣候變遷下水稻氣象資源利用效率之研究[1]

姚銘輝[2,3]　陳守泓[2]　漆匡時[2]

摘　要

姚銘輝、陳守泓、漆匡時。2007。氣候變遷下水稻氣象資源利用效率之研究。台灣農業研究 56:31-44。

由於人類活動的結果，大氣二氧化碳濃度快速增加，已嚴重影響全球氣候系統。根據 IPCC 的報告，在 2100 年全球平均溫度將上升 1.4-5.8℃，同時並伴隨極端天氣事件發生頻率的增加。從農業氣象的觀點，作物對氣象資源的利用效率是評估氣候變遷下農業生產的重要指標。本研究利用光合作用儀器量測水稻之輻射利用效率及水分利用效率，以評估在高溫、乾旱及提高二氧化碳環境下，氣候因素、品種差異及葉片生理反應之間的交感。由試驗結果顯示，高溫造成輻射及水分利用效率下降，然而，提高二氧化碳則可大幅增加葉片光合作用效率，使輻射利用效率依品種特性提高約 10-70%之間。乾旱則因葉片缺水使氣孔關閉，而導致輻射利用效率下降，但因減少水分蒸散而使水分利用效率提高。至於同時處理三種氣候因素，則輻射利用效率下降約 30-40%，水分利用效率可達 29%。

關鍵詞：氣候變遷、輻射利用效率、水分利用效率、水稻。

前　言

人類大量使用石化原料，造成大氣二氧化碳濃度在過去二百年間增加 37%，而達到目前的 370 μmol mol^{-1} (Keeling & Whorf 2000)。二氧化碳因吸收來自地面的長波輻射而使全球暖化，同時也劇烈改變現今氣候型態 (Hitz & Smith 2004)。對於未來氣候的評估，雖然氣候本身具有很高的變異性，在預測上存在著不確定性，但由目前的研究顯示，基本上，科學界對於未來二氧化碳濃度持續增加及溫度升高具有共識，差別僅在上升速率估算的差異，而這也受全球各國對於京都議定書溫室氣體減量策略執行程度的影響。依據預測在 21 世紀結束前，全球平均溫度將昇溫達 1.4 - 5.8℃ (IPCC 2001)。同時溫度升高則加速水文循環 (hydrological cycle)，依據模式評估降雨型態將朝向極端化，而雨量分布不平均也將使乾旱發生機率大增 (Arnell 1999)。

農業生產過程受氣候影響極大，面對未來氣候改變應如何評估及因應，是對於農業永續經營重要的一環。農業上所謂 "效率" 是指產出和投入的比值 (Spedding *et al.* 1981)。農作物產出部分，一般以光合作用速率、乾物重累積量或穀粒產量為衡量基準；但投入部分則較為複雜，除植體本身遺傳特性或生理反應外，包括不同資源的投入，如施肥、病蟲害管理及氣象環境等。而不同資源在複雜的農業生態體系內的利用效率是可作為環境改善或損失評估的指標 (Sinclair & Muchow 1999)。

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2278 號。接受日期：96 年 02 月 26 日。
2. 本所農工組副研究員、聘用人員、助理研究員。台灣　台中縣　霧峰鄉。
3. 通訊作者，電子郵件：mhyao@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23338162。

針對未來氣候對於農作物氣象資源利用效率之探討已普遍受到重視，包括對輻射利用效率 (Manderscheid *et al.* 2003) 及水分利用效率 (Polly 2002)。 Monteith (1977) 首先建立生質量累積和截取輻射量間之實測及理論基礎，並將兩者的比值稱爲輻射利用效率 (radiation-use efficiency；RUE)，並認爲大多數作物在良好環境生長之輻射利用效率是固定值。但由於農業生長環境是複雜且多變，後來資料證實輻射利用效率並非定值，受品種效應和不同肥料環境影響 (Cheng *et al.* 2000)。Yao *et al.* (2005) 以不同量測尺度也證明水稻之輻射利用效率是隨環境變化而成動態改變之數值。另有關於作物水分利用效率 (water use efficiency; WUE) 可依據量測尺度而有不同定義，在本研究中葉片之水分利用效率定義爲光合作用和蒸散量 (A/E) 的比值。Yao *et al.* (2006) 研究指出水稻實際用水量和乾物重的比值，與葉片水分利用效率具有高相關性，說明在面對大量試驗材料或處理時，葉片水分利用效率數值可以代表水稻植株之用水效率。

水稻是我國主要農作物，過去針對該作物之氣象資源利用有初步探討 (Yao *et al.* 2005；Yao *et al.* 2006)，但缺少對氣候變遷影響，以及品種對不同氣象資源利用效率間交感之探討。本文即針對未來可能面臨之氣候條件（高溫、高二氧化碳及缺水）對水稻氣象資源利用效率之影響作探討。

材料與方法

水稻供試品種包括我國目前栽培種，如稉稻之台稉 8 號、台稉 9 號、台農 67 號及台農 71 號；秈稻如台中秈 10 號、台中秈 17 號及台中再來 1 號；陸稻如東陸 3 號；國外品種如 IR8、IR36、IR72、Milyang 23、CICA 8 及 Lemont 等 14 個品種。將水稻種原種子經浸水消毒後，播種於含田間土壤之塑膠盆，待至三葉齡移至 1 / 2500 ha 盆缽（表面積 0.06 m^2，高度 28 cm），每一品種種植五盆，每盆種植一株，填土深度 22 cm，再加水 3 cm，每日檢查水深度並加水至固定高度。試驗進行期間爲 2005 年 4 月至 10 月間。試驗材料測定時期爲最高分蘗期至抽穗期之前，爲控制不同品種測定時期一致，依據預備試驗所觀察品種特性，逐批播種以使能於相同時間進行相關試驗。

水稻輻射利用效率是以葉片光合作用速率除以即時輻射量 (μmol CO_2 / mmol PPFD)；水分利用效率則是光合作用速率除以蒸散作用速率 (μmol CO_2 / mmol H_2O)。其中光合作用速率及蒸散速率量測是由光合作用分析儀 (Model 6400 Licor, Inc., USA) 所量測，同時量測水稻葉片氣孔導度及氣孔內腔二氧化碳濃度 (Ci) 之數值。輻射量量測爲光子流計 (quantum sensors) (Model Li-190SA, Licor, Inc., USA)，測定波長範圍 400-700 nm，感測器在使用前以光學輻射校正器 (optical radiation calibrator) (Model 1800-02, Licor, Inc., USA) 校正參數。所有資料儲存於資料收集器 (CR10x data logger, Campbell Scientific Inc., USA)。實驗每一數值爲 5 次量測之平均，量測時之光度範圍控制在 800-1200 μmol s^{-1} m^{-2} 之間。

水稻乾旱處理是以葉片之相對水分含量 (relative water content；RWC) 表示，該比值以（葉鮮重-葉乾重）/（葉膨重-葉乾重）作計算，其中葉膨重是指將葉片浸泡於蒸餾水中 3 hr，至葉片細胞完全吸水飽和時之重量。本文所述之乾旱處理是指葉片有捲曲現象，但澆水後葉片會恢復膨壓，即 RWC= 0.7- 0.8 時之水稻植株。

本研究各項模擬氣候是在具有氣候控制系統之密閉玻璃溫室進行，溫室之體積爲 18 立方公尺 ($3 \times 2 \times 3\ m^3$)，可控制溫室內溫度及二氧化碳濃度；其中二氧化碳監測是由近紅外光分析儀 (Model WMA-4, PP System, Inc., U.K.) 量測，相對濕度和氣溫由溫度及濕度探針 (HMP35C, Vaisala Inc., USA)。溫室內光源爲透過透明玻璃之太陽光。

結　　果

高溫效應對水稻之影響

由表 1 比較 14 種水稻品種在 25℃及 35℃之輻射利用效率可發現，高溫將使輻射利用效率明顯下降，但水稻品種間對於高溫反應並不盡相同，其中以 CICA 8 較特殊，在高溫下仍能維持高輻射利用效率，稉稻之台稉 8 號也較高，但秈稻之台中在來 1 號則明顯較其他品種低。另高溫也使葉片水分利用效率降低，但下降幅度不若輻射利用效率明顯。

CO_2效應對水稻之影響

大氣二氧化碳濃度提高使進入氣孔內腔之氣體通量增加，有助提供葉片固碳作用之來源。由本研究結果可知，提供高二氧化碳環境可使水稻輻射利用效率明顯提高，其中以 CICA 8 增加 70%最高，台稉 8 號最低，其餘品種介於中間（表 2）。另外高 CO_2 濃度將使水分利用效率大幅增加，同時以不同水稻品種相比較，輻射利用效率和水分利用效率具有一致性，即輻射利用效率高則水分利用效率亦高。

表 1. 比較 14 種水稻品種在不同溫度處理下輻射利用效率及水分利用效率之差異

Table 1. Comparison of the radiation use efficiency (RUE) and water use efficiency (WUE) among 14 rice cultivars under different temperature treatments

	RUE			WUE		
Rice cultivar	35℃	25℃	35℃/25℃(%)	35℃	25℃	35℃/25℃(%)
IR8	10.16 ±0.38[z]	15.45±0.30	65.76	2.41±0.12	4.12±0.32	58.50
IR36	8.07 ±0.40	16.04±0.35	50.31	3.30±0.32	4.13±0.19	79.90
IR72	8.42 ±0.30	15.93±0.34	52.86	3.31±0.20	4.85±0.09	68.25
Taichung sen No.1	7.98 ±0.46	17.65±0.25	45.21	2.39±0.25	4.38±0.31	54.56
Taichung sen No.10	9.51 ±0.35	16.01±0.23	59.40	2.54±0.16	3.96±0.46	64.14
Taichung sen No.17	9.07 ±0.41	16.35±0.23	55.47	2.80±0.31	4.43±0.47	63.21
Tung Lu No.3	9.87 ±0.35	17.35±0.38	56.89	3.18±0.44	4.23±0.41	75.18
Taikeng No.8	11.99 ±0.22	15.91±0.19	75.36	2.57±0.34	3.45±0.45	74.49
Taikeng No.9	10.11 ±0.23	16.52±0.16	61.20	2.40±0.41	4.05±0.32	59.26
Tainung No.67	8.92 ±0.36	15.10±0.12	59.07	2.54±0.10	3.90±0.29	65.13
Tainung No.71	8.31 ±0.12	12.40±0.22	67.02	2.78±0.31	3.58±0.38	77.65
CICA8	13.60 ±0.35	15.02±0.34	90.55	3.18±0.35	3.79±0.40	83.91
LEMONT	10.16 ±0.40	17.92±0.35	56.70	2.98±0.43	4.17±0.31	71.46
Milyang 23	8.93 ±0.27	13.88±0.32	64.34	2.43±0.18	3.75±0.39	64.80

[z] Each value represents the mean±S.E.

表 2. 比較 14 種水稻品種在不同二氧化碳濃度處理下輻射利用效率及水分利用效率之差異

Table 2. Comparison of the radiation use efficiency (RUE) and water use efficiency (WUE) among 14 rice cultivars under different CO_2 concentration treatments

	RUE			WUE		
Rice cultivar	1000 ppm	400 ppm	1000 ppm/ 400 ppm (%)	1000 ppm	400 ppm	1000 ppm/ 400 ppm (%)
IR8	20.12±1.05	14.41±0.30	139.62	5.43±1.52	2.90±0.69	187.24
IR36	17.78±0.62	15.15±0.35	117.36	4.85±1.07	2.86±0.29	169.58
IR72	23.04±0.64	14.73±0.34	156.42	5.39±1.16	2.95±0.43	182.71
Taichung sen No.1	18.74±0.75	16.23±0.25	115.47	3.99±1.73	2.48±0.26	160.89
Taichung sen No.10	22.65±1.00	15.61±0.23	145.10	4.86±1.44	3.52±0.85	138.07
Taichung sen No.17	20.00±0.86	16.25±0.23	123.08	4.85±0.98	2.99±0.95	162.21
Tung Lu No.3	19.50±0.48	16.03±0.38	121.65	5.16±1.46	3.01±0.40	171.43
Taikeng No.8	17.46±0.82	15.72±0.19	111.07	6.00±1.72	3.88±0.32	154.64
Taikeng No.9	20.02±0.57	16.49±0.16	121.41	4.60±1.56	3.16±0.29	145.57
Tainung No.67	21.16±0.60	16.18±0.12	130.78	5.48±1.45	3.43±0.44	159.77
Tainung No.71	17.74±0.84	14.44±0.22	122.85	4.72±1.13	2.98±0.60	158.39
CICA8	26.85±1.08	15.78±0.34	170.15	5.85±1.36	3.33±0.33	175.68
LEMONT	23.61±0.90	16.92±0.35	139.54	5.48±1.35	3.86±0.33	141.97
Milyang 23	19.65±1.10	13.63±0.32	144.17	4.51±1.00	2.76±0.68	163.41

缺水效應對水稻之影響

水分提供對水稻極為重要，缺水將使光合作用速率下降，進而使輻射利用效率降低（表 3）。乾旱處理相較於高溫及高 CO_2 環境有較明顯之品種差異，陸稻（東陸 3 號）雖然在正常環境光合作用不高，但乾旱環境仍能維持高輻射利用效率；稉稻系列品種則明顯偏低，尤其是台稉 8 號下降最為明顯；至於秈稻和 IR 系列品種則介於中間。

氣候變遷效應對水稻之影響

未來氣候變遷對農業生產而言，可能面臨之氣候條件包括高溫、高二氧化碳及缺水。而有關三種氣候變數之交感是以台農 67 號及台中秈 10 號為材料作探討，在溫度及 CO_2 濃度組合中（圖 1），水稻在高 CO_2 (1000 ppm) 環境輻射利用效率較高，而對於溫度需求在 32℃有一高點，但 400 ppm 處理之輻射利用效率則是在 28℃ 時較高，顯然在不同 CO_2 濃度下光合作用進行所需溫度並不相同，但超過此溫度則急遽下降，顯示高溫逆境已產生。水分利用效率和輻射利用效率一致，由於高溫及高 CO_2 皆會刺激氣孔關閉，關閉之氣孔將使 CO_2 及水汽在氣孔內腔的通透同時受阻，但因外界高 CO_2 環境使進入氣孔之通量增加，使大量 CO_2 與 Rubisco 結合而加速固碳作用進行。不同 CO_2 濃度在溫度間的差異，在 30℃ 與 25℃ 以下 CO_2 處理濃度和輻射利用效率及水分利用效率成近似直線關係（圖 2），但在 25℃ 時 CO_2 處理之高點在 800 ppm，CO_2 濃度過高反而使輻射利用效率

表 3. 比較 14 種水稻品種在乾旱處理下輻射利用效率及水分利用效率之差異
Table 3. Comparison of the radiation use efficiency (RUE) and water use efficiency (WUE) among 14 rice cultivars under drought treatments

	RUE			WUE		
Rice cultivar	Drought	Control	% of control	Drought	Control	% of control
IR8	6.66±1.10	13.52±0.33	49.26	6.29±1.18	4.26±0.65	147.65
IR36	7.93±0.64	14.07±0.53	56.36	5.12±0.93	4.58±0.25	111.79
IR72	7.86±1.48	13.68±0.45	57.46	6.60±0.65	5.06±0.26	130.43
Taichung sen No.1	7.44±1.66	16.17±0.64	46.01	5.26±1.12	4.28±0.57	122.90
Taichung sen No.10	8.91±0.99	17.47±0.19	51.00	7.43±0.70	6.65±0.79	111.73
Taichung sen No.17	6.71±1.06	15.42±0.08	43.51	7.86±0.77	5.67±0.93	138.62
Tung Lu No.3	8.66±0.80	12.90±0.38	67.13	7.42±1.38	6.11±0.38	121.44
Taikeng No.8	4.41±1.46	13.54±0.61	32.57	5.89±0.80	4.66±0.44	126.39
Taikeng No.9	5.58±1.89	14.39±0.65	38.78	4.68±0.66	3.98±0.40	117.59
Tainung No.67	6.55±1.22	16.45±0.53	39.82	5.65±0.99	4.38±0.37	129.00
Tainung No.71	4.67±1.25	11.40±0.80	40.96	4.37±0.73	4.00±0.69	109.25
CICA8	8.02±1.61	15.89±0.04	50.47	5.17±0.30	5.68±0.81	91.02
LEMONT	7.49±1.37	12.63±0.13	59.30	5.80±1.53	5.24±0.42	110.69
Milyang 23	7.00±1.30	16.82±0.54	41.62	5.59±0.58	4.19±0.51	133.41

下降。CO_2 濃度和乾旱之間的交感部份，由圖 3 可知乾旱環境高 CO_2 仍使輻射利用效率增加，但不論 CO_2 濃度差異的處理，水分利用效率的變化是一致的，在排水後第 1 天或第 2 天達最高，之後逐日降低。表 4 以模擬未來氣候環境，將三種可能之環境條件（高溫、高 CO_2 及乾旱）同時處理水稻植株，以瞭解其輻射及水份利用效率之變化。由資料顯示，雖然高 CO_2 使輻射利用效率提高，但高溫及乾旱則明顯將 CO_2 效應減低，其中秈稻品種較稉稻更能適應未來環境，雖然兩基因型相差甚微。至於水分利用效率方面，14 個參試品種皆略為提高，但基因型間並無明顯差異存在。

討　　論

本文中以輻射利用效率評估作物對未來氣候改變之反應指標，主要原因為該項指標以入射輻射量為除值，雖然本文中各項氣象資源利用效率之計算僅取在 800-1200 μmol s^{-1} m^{-2} 之光度環境下之數值，但因光合作用在量測時，數值受輻射量影響極大，事實上，輻射量變化常是作物生理反應主要變異來源。Jong *et al.* (1982) 曾指出在夏威夷所種植玉米可由輻射量解釋 78.5%產量的變異。因此，以除值方式去除輻射量影響，較單獨比較光合作用更為穩定，也方便於不同模擬環境結果比較。同時輻射利用效率和種子產量及收穫指數 (harvest index) 皆有高相關性 (Tesfaya *et al.* 2006)，這對於應用於評估氣候變遷衝擊農業生產具有指標性意義。

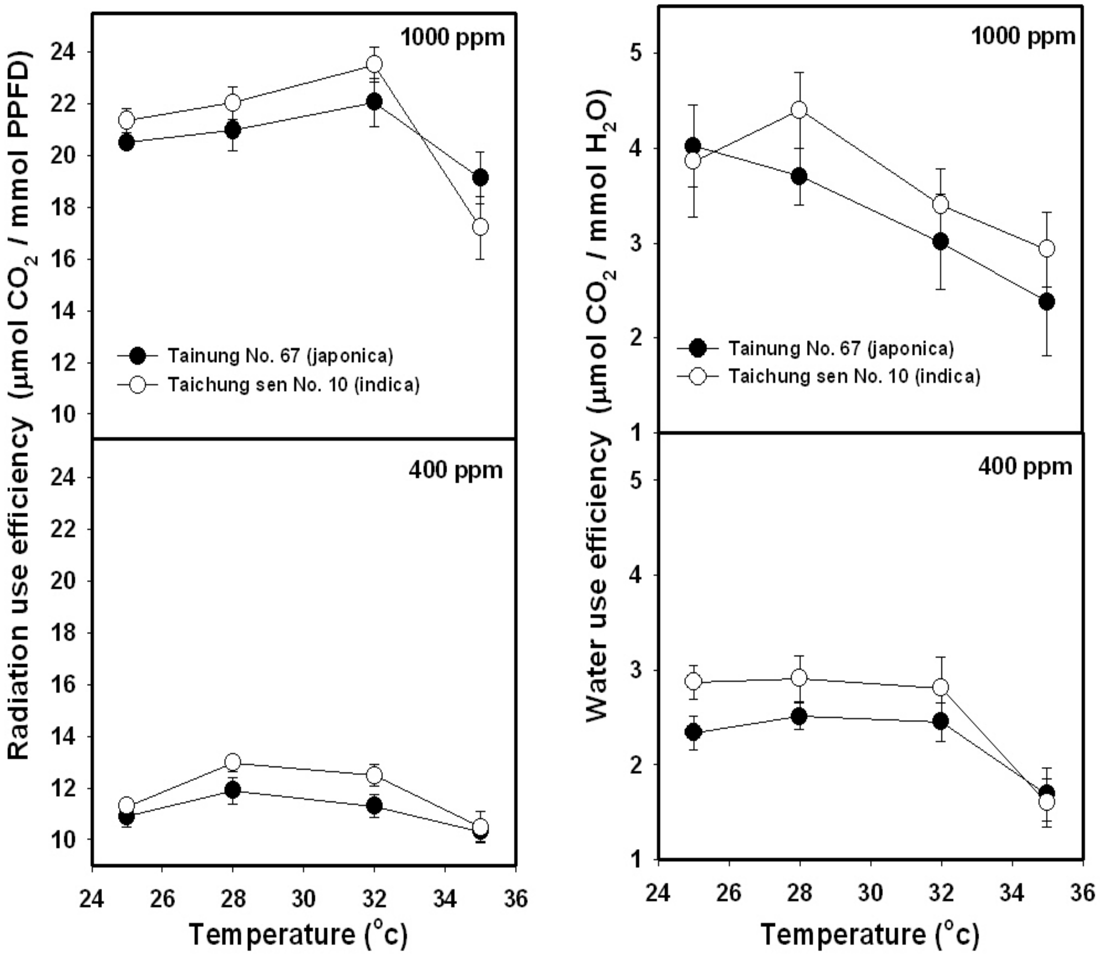

圖 1. 比較水稻台農 67 號及台中秈 10 號在不同溫度範圍及兩種二氧化碳濃度（400 及 1000 ppm）處理下輻射利用效率及水分利用效率之差異

Fig. 1. Comparison of the radiation- and water- use efficiency of two rice varieties Tainung No.67 and Taichung sen No. 10, among different temperature scales under 1000 ppm and 400 ppm CO_2 concentration treatments.

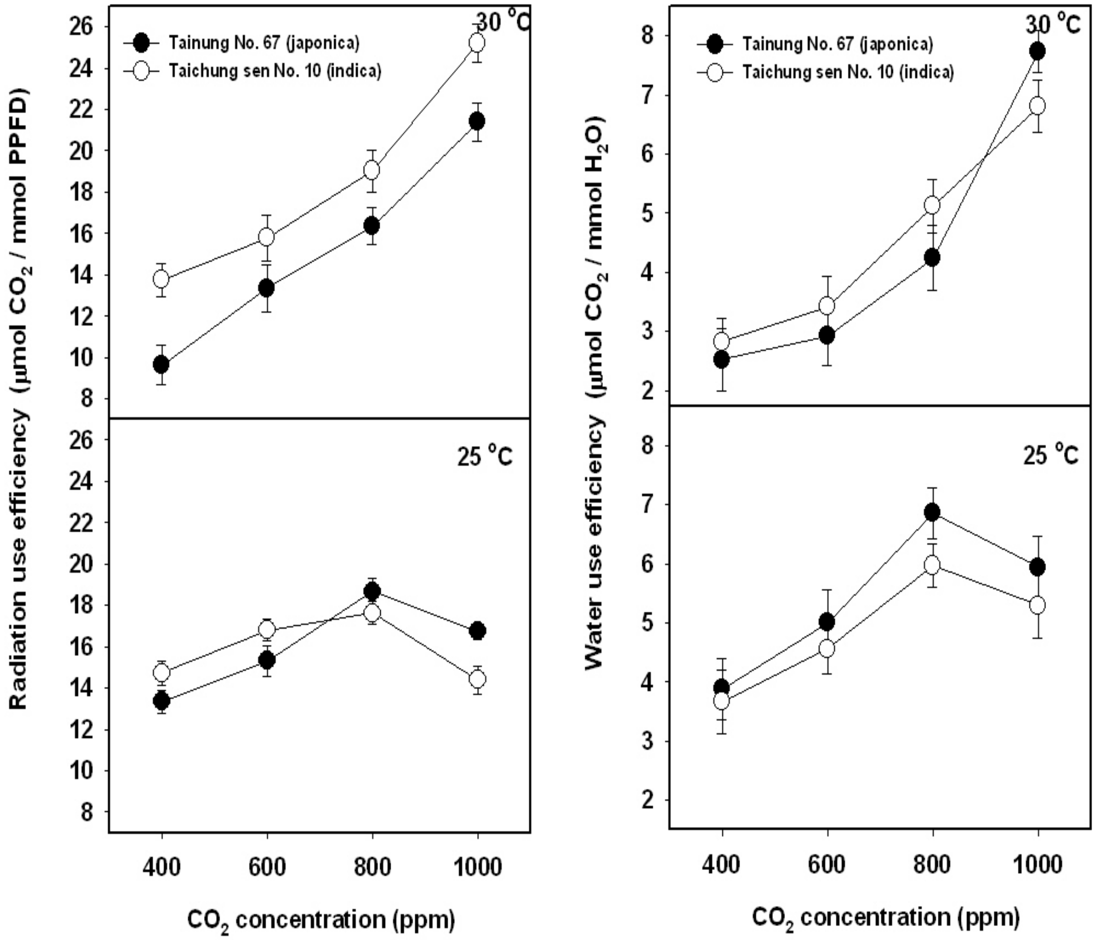

圖 2. 比較水稻台農 67 號及台中秈 10 號在不同二氧化碳濃度範圍及兩種溫度（25℃及 30℃）處理下輻射利用效率及水分利用效率之差異

Fig. 2. Comparison of the radiation- and water- use efficiency of two rice varieties Tainung No.67 and Taichung sen No.10, among different CO_2 concentration scales under 25℃ and 30℃ treatments.

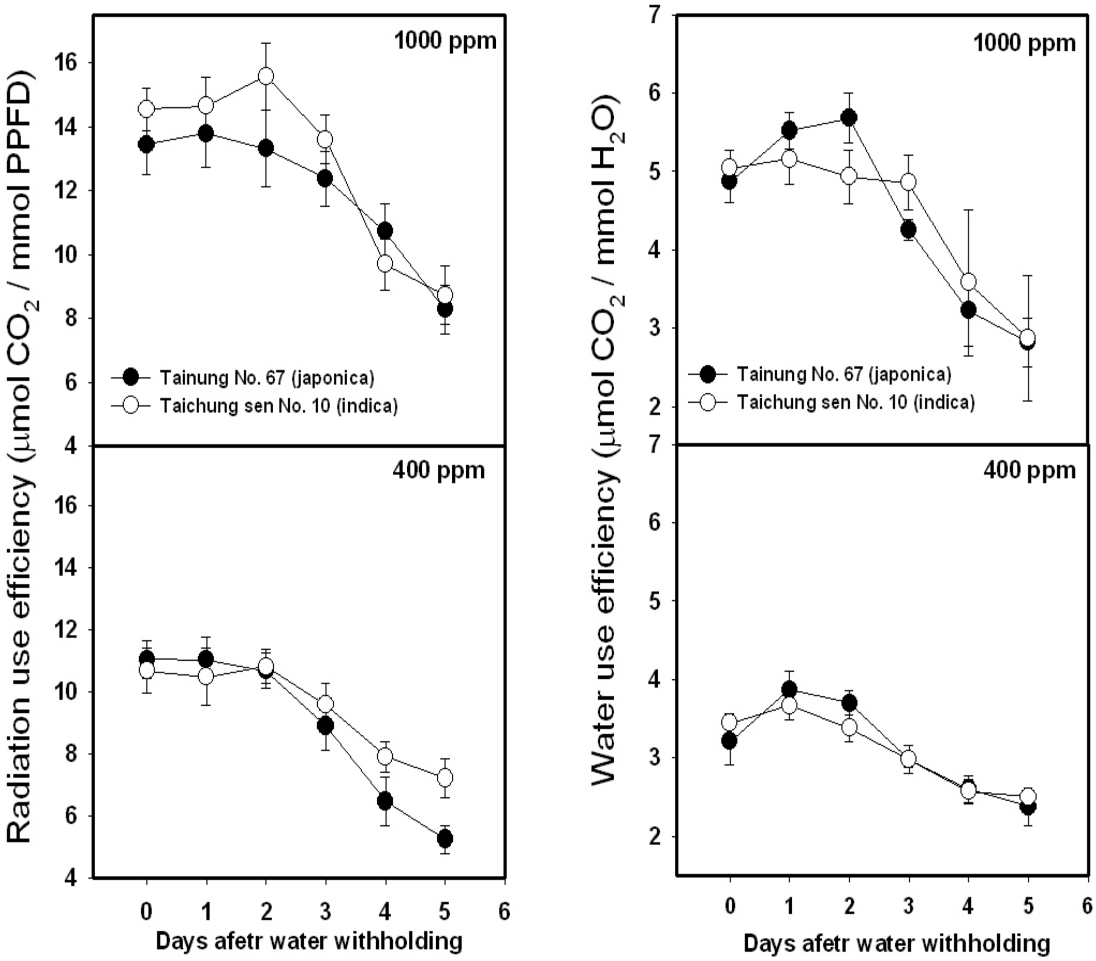

圖 3. 比較水稻台農 67 號及台中秈 10 號在不同排水日數及兩種二氧化碳濃度（400 及 1000 ppm）處理下輻射利用效率及水分利用效率之差異

Fig. 3. Comparison of the radiation- and water- use efficiency of two rice varieties Tainung No.67 and Taichung sen No.10, among the days after water withholding under 1000 ppm and 400 ppm CO_2 concentration treatments.

表 4. 比較 14 種水稻品種在逆境（高溫、高二氧化碳及乾旱）處理下輻射利用效率及水分利用效率之差異

Table 3. Comparison of the radiation use efficiency (RUE) and water use efficiency (WUE) among 14 rice cultivars under stress (high temperature, high CO_2 concentration and drought) treatments.

	RUE			WUE		
Rice cultivar	Stress	Control	% of control	Stress	Control	% of control
IR8	9.38±0.93	13.52±0.33	69.37	5.21±1.11	4.26±0.65	122.30
IR36	8.93±0.76	14.07±0.53	63.46	5.34±0.82	4.58±0.25	116.59
IR72	9.61±1.01	13.68±0.45	70.25	5.61±0.74	5.06±0.26	110.87
Taichung sen No.1	8.44±0.86	15.17±0.64	55.64	5.13±0.86	4.28±0.57	119.85
Taichung sen No.10	10.91±0.82	17.47±0.19	62.45	7.03±0.91	6.65±0.79	105.71
Taichung sen No.17	9.79±1.13	15.42±0.08	63.49	6.36±0.97	5.67±0.93	112.17
Tung Lu No.3	8.48±0.83	12.90±0.38	65.74	6.39±1.08	6.11±0.38	104.58
Taikeng No.8	8.45±1.16	15.54±0.61	54.38	4.99±0.96	4.66±0.44	107.08
Taikeng No.9	8.58±0.99	14.39±0.65	59.62	4.11±0.88	3.98±0.40	103.27
Tainung No.67	8.55±0.79	14.45±0.53	59.17	5.65±0.79	4.38±0.37	129.00
Tainung No.71	6.67±1.05	11.40±0.80	58.51	4.69±0.80	4.00±0.69	117.25
CICA8	10.02±1.22	15.89±0.04	63.05	5.71±0.75	5.68±0.81	100.53
LEMONT	8.49±1.07	12.63±0.13	67.22	5.80±0.75	5.24±0.42	110.69
Milyang 23	10.00±0.87	16.82±0.54	59.45	4.59±0.68	4.19±0.51	109.55

[z] Stress mean the combination of three treatments, include the high temperature (35℃), high CO_2 concentration (1000 ppm) and drought.

當未來地球氣候成暖化現象，由表 1 結果可知，高溫將使輻射利用效率明顯下降。Kumar *et al.* (1996) 研究發現溫度和輻射利用效率呈負相關，而由豆科作物試驗結果也認爲高溫使光合作用速率下降，而影響輻射利用效率數值 (Lambreva *et al.* 2005)。但水稻品種間對於高溫反應並不盡相同，每一品種由於遺傳特性及植株型態的差異，對於高溫的反應不同（表 1）。水稻在我國已有相當長之栽培歷史，同時也培育多種適應本土氣候之品種或品系，但我國水稻品種育成過程對溫度檢定僅耐寒性一項，例如台中在來 1 號對低溫敏感，但耐熱部分則無相關資料。事實上，水稻品種對於高溫及低溫敏感性是否一致是值得探討的議題，其有助於對不同溫度逆境之抗性品種篩選效率。另高溫也使葉片水分利用效率降低（表 1），但下降幅度不若輻射利用效率明顯。Rouphael & Colla (2005) 比較溫室南瓜在不同季節之輻射及水分利用效率變化，發現兩項數值對溫度具有一致反應，但輻射利用效率較爲敏感，與本研究結果相近。作物爲適應高溫環境，關閉氣孔以減少水分散失，如此將造成進入氣孔內腔之二氧化碳濃度下降，同時高溫使作物呼吸作用增加，並抑制光合作用過程活性（包括電子傳遞及酵素活性），使整個固碳作用循環變慢，也是光合作用速率減緩原因之一 (Sands 1996)。

對 C3 型作物而言，提高大氣二氧化碳濃度使光合作用速率增加之原因，是經由細胞內 CO_2 濃度增加、羧化 (carboxilation) 效率提高及減少光呼吸 (photorespiration) 等方式 (Centritto *et al.* 2004) 而達成。由本研究結果，提供高二氧化碳環境可使水稻輻射利用效率明顯提高（表 2）。輻射利用效率提高雖有助於乾物重累積，但對於產量則較不明顯。Yang *et al.* (2006) 以 FACE (Free-air.-CO_2 Enrichment) 方式評估水稻生育期乾物重累積，在田間每一生育期皆大幅增加，尤其在分櫱期增加達 41%，但穀粒形成後則降低至 22%。此現象在其他作物有類似結果，小麥在高 CO_2 濃度環境也會使輻射利用效率提高，但僅限於營養生長期，穀粒充實期並不受影響 (Manderscheid *et al.* 2003)。葉片周圍 CO_2 濃度提高會刺激氣孔關閉 (Huxman *et al.* 1998)，並減少蒸散速率及增加葉片溫度 (Lawlor & Mitchell 1991)。另由表 2 水分利用效率之結果可知，高 CO_2 濃度環境對水稻葉片之輻射利用效率和水分利用效率具有一致性。Centritto *et al.* (2002) 研究桃樹苗在 CO_2 濃度 700 μmol 環境下，葉片氣孔導度及蒸散作用並不受影響，水分利用效率提高主要來自於光合作用使乾物重大量累積的結果。此試驗結果說明 CO_2 濃度使光合作用速率增加是造成水分利用效率增高的原因。

水稻栽培除曬田期間需排水外，其餘各生育期皆在湛水環境生長，但面臨未來水資源短缺，水稻栽培可能遭遇乾旱之威脅。土壤乾旱造成供應葉片蒸散之水分不足，葉片呈萎凋狀態則影響光合作用代謝過程，事實上，光合作用胞器對於缺水極爲敏感，包括降低羧化效率 (Wise *et al.* 1991)，RuBPCO (ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase /oxygenase) 的數目和活性 (Shangguan *et al.* 1999) 及減少 RuBP (ribulose-bisphosphate) 再生 (Tezara & Lawlor 1995)。另外，高溫及高 CO_2 處理僅影響葉片反應，但作物對乾旱的反應或適應則屬於整體性，包括根部水分吸收、莖部傳導及葉片蒸散每一環節皆會影響對於水分利用效率。也由於不同水稻品種之型態及生理特性不同，在正常供水環境對水份利用效率即不同（表 3），而由其他水稻試驗也說明此現象 (Dingkuhu *et al.* 1991)。對缺水環境而言，葉片水分利用效率提高是較具實際運用的指標，提高的原因在於氣孔關閉同時影響 CO_2 固定量及水汽蒸散量，兩者在氣孔內外通量的變動直接影響水分利用效率。Peng & Krieg (1992) 比較 5 種基因型之高梁，在乾旱環境地上部生質量累積差異甚大，但在水分利用上差異不大，說明光合作用與水分利用效率有密切相關性，基因型間蒸散作用反而較不明顯。但 Yao *et al.* (2006) 試驗結果說明，缺水水稻葉片水分利用效率較高原因在於氣孔關閉使葉片蒸散量急速下降，排水後 3 天不再下降，但光合作用速率下降較爲緩和，因此會出現中度乾旱時水分利用效率偏高情形，而葉片嚴重捲曲時光合作用達低點，則水分利用效率降至最低，說明不同乾旱程度影響水分利用效率。

由其他試驗結果可知，作物所謂「CO_2 肥料效應」 (CO_2 fertilization effect) 主要是輻射利用效率的增加所致 (Mulholland *et al.* 1998)。事實上，提高大氣 CO_2 濃度雖可增加作物生質量累積，但仍受限於其他環境資源 (Campbell *et al.* 1997)，CO_2 效應的限制因子可包括生物性因子（如細菌、病毒及真菌等）及非生物因子（如水分利用、溫度、日射量及營養限制等） (Aranjuelo *et al.* 2006)。雖然提高溫度使 CO_2 固定增加可由 Rubisco 的動力反應，及提高積存 (sink) 代謝使光合產物的利用效率提高 (Farrar & Williams 1991) 等因素作解釋，然而，有些研究結果並未發現高溫對提高 CO_2 效應具有正面效果 (Sage *et al.* 1995)。而由本研究之圖 1 及圖 2 結果說明，溫度是會影響 CO_2 效應之輻射利用效率及水分利用效率，但有其限制範圍。

由圖 3 可知不同乾旱程度影響水分利用效率 (Singh & Singh 2003; Yao *et al.* 2006)，而中度乾旱（排水後 1 或 2 天，RWC=0.7-0.8）使水分利用效率提高的原因，除氣體交換特性之變化外，細胞內澱粉較醣類更易分解，因此在水稻葉鞘有更多的碳水化合物累積 (Cabuslay *et al.* 2002)。同時，

除碳水化合物累積外，植株本身也會作適應措施，包括重新分配碳水化合物到根部 (DeLuis *et al.* 1999)，和誘導滲透壓調節 (osmotic adjustment) (Wullschleger *et al.* 2002)，這都有助於葉片對水分的利用效率。

結　論

大氣二氧化碳濃度的快速增加，造成全球暖化現象，已嚴重影響全球氣候系統，極端天氣事件發生頻率的增加，衝擊著地球生態系及糧食生產。雖然氣候本身不確定性及預測具有難度，但仍須對未來氣候變遷作合適的評估及因應。本研究評估水稻在高溫、乾旱及提高二氧化碳環境下，氣候因素、品種差異及葉片生理反應之間的交感。由試驗結果顯示，高溫造成輻射及水分利用效率下降，然而，提高二氧化碳則可大幅增加葉片光合作用效率，使輻射利用效率依品種特性提高約 10-70% 之間。乾旱則因葉片缺水使氣孔關閉，而導致輻射利用效率下降，但因減少水分蒸散而使水分利用效率提高。至於同時處理三種氣候因素，則輻射利用效率下降約 30-40%，水分利用效率則略為提高。

引用文獻 (Literature cited)

Aranjuelo, I., J. J. Irigoyen, P. Perez, P. Martinez-Carrasco, and M. Sanchez-Diaz. 2006. Response of nodulated alfalfa to water supply, temperature and elevated CO_2: productivity and water relations. Environ. Exp. Bot. 55:130-141.

Arnell, N. W. 1999. Climate change and global water resources. Global. Environ. Change 9:S31-S49.

Cabuslay, G. S., O. Ito, and A. A. Alejar. 2002. Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa L.*) to water deficit. Plant Sci. 163: 815-827.

Campbell, B. D., D. M. Smith, and G. M. McKeon. 1997. Elevated CO_2 and water supply interactions in grasslands : a pasture and rangeland management perspective. Global Change Biol. 3:177-187.

Centritto, M., M. E. Lucas, and P. G. Jarvis. 2002. Gas exchange, biomass, whole-plant water-use efficiency and water uptake of peach (*Prunus persica*) seedling in response to elevated carbon dioxide concentration and water availability. Tree Physiol. 22:699-706.

Cheng, W., D. A. Sims, Y. Luo, J. S. Coleman, and D. W. Johnson. 2000. Photosynthesis, respiration and net primary production of sunflower stands in ambient and elevated atmospheric CO_2 concentrations: an invariant NPP GPP ratio Global Change Biol. 6:931-941.

De Luis, I., J. J. Irigoyen, and M. Sanchez-Diaz. 1999. Elevated CO_2 enhances plant growth in drought N_2-fixing alfalfa without improving water status. Physiol. Plant 107:84-89.

Dingkuhu, M., G. D. Farquhar, S. K. De Datta, and J.C. O'Toole. 1991. Discrimination of 13C among upland rice having different water use efficiencies. Aust. J. Agric. Res. 42: 1123-1131.

Farrar, J. F., and M. L. Williams. 1991. The effects of increased atmospheric carbon dioxide and temperature on carbon partitioning, source-sink relations and respiration. Plant Cell Environ. 14:819-830.

Hitz, S. and J. Smith. 2004. Estimating global impacts from climate change. Global Environ. Change

14:201-218.

Houghton, J. T., and D. Yihui. 2001. The Scientific. Third Assessment Report of Working Group I. Cambridge University Press, Cambridge. 787 pp.

Huxman, T. E., E. P. Hamerlynck, M. E. Loik, and S. D. Smith. 1998. Gas exchange and chlorophyll fluorescence responses of three south-western *Yucca species* to elevated CO_2 and high temperature. Plant Cell Environ. 21:1275-1283.

Jong, S. K., J. L. Brewbaker, and C. H. Lee. 1982. Effects of solar radiation on the performance of maize in 41 successive monthly plantings in Hawaii. Crop Sci. 22:13-18.

Keeling, C. D., and T. P. Whorf. 2000. Atmospheric CO_2 records from sites in the SIO air sampling network. *In* Trends : A Compendium of Data on Global Change. Carbon Dioxide Information Analysis Center, Oak Ridge Nat. Lab., Oak Ridge, TN.

Kumar, P. V., N. N. Srivastava, U. S. Victor, D. G. Rao, D. G., A. V. M. S. Rao, Y. S. Luo. Y. D. A. Sims, R. B. Thomas, D. T. Tissue, and J. T. Ball. 1996. Sensitivity of leaf photosynthesis to CO_2 concentration is an invariant function for C3 plant：a test with experimental data and global application. Global Biogeochem. Cyc. 10:209-222.

Lambreva, M., D. Stoyanova-Koleva, G. Baldjiev, and T. Tsonev. 2005. Early acclimation changes in the photosynthetic apparatus of bean plants during short-term exposure to elevated CO_2 concentration under high temperature and light intensity. Agric. Ecosyst. Environ. 106:219-232.

Lawlor, D. W., and R. A. C. Mitchell. 1991. The effect of increasing CO_2 on crop photosynthesis and productivity : a review of field studies. Plant Cell Physiol. 14:807-818.

Manderscheid, R., S. Burkart, B. Bramm, and W. Hans-Joachim. 2003. Effect of CO_2 enrichment on growth and daily radiation use efficiency of wheat in relation to temperature and growth stage. Europ. J. Agron. 19:411-425.

Monteith, J. L. 1977. Climate and the efficiency of crop production in Britain. Philos. Trans. R. Soc. Lond. Biol. Sci. 281:277-294.

Mulholland, B. J., J. Craigon, C. R. Black, J. J. Colls, J. Atherton, and G. Landon. 1998. Effects of elevated CO_2 and O_3 on the rate and duration of grain growth and harvest index in spring wheat (*Triticum aestivum L.*). Global Change Biol. 4:627-635.

Peng, S., and D. R. Krieg. 1992. Gas exchange traits and their relationship to water use efficiency of grain sorghum. Crop Sci. 32:386-391.

Polly, H. W. 2002. Implication of atmospheric and climate change for crop yield and water use efficiency. Crop Sci. 42:131-140.

Rouphael, Y., and G. Colla. 2005. Radiation and water use efficiencies of greenhouse *zucchini squash* in relation to different climate parameters. Europ. J. Agron. 23:183-194.

Sage, R. F., J. Santrucek, and D. J. Grise. 1995. Temperature effects on the photosynthetic response of C3 plants to long-term CO_2 enrichment. Vegetation 121:27-77.

Sands, P. J. 1996. Modeling canopy production. III. Canopy light-utilization efficiency and its sensitivity to physiological and environmental variables. Aust. J. Plant Physiol. 23:103-114.

Shangguan, Z., M. Shao, and J. Dyckmans. 1999. Interaction of osmotic adjustment and photosynthesis in winter heat under soil drought. J. Plant Physiol. 154:735-758.

Sinclair, T. R. and R. C. Muchow. 1999. Radiation use efficiency. Adv. Agron. 65:215-265.

Singh, B., and G. Singh. 2003. Biomass partitioning and gas exchange in *Dalbergia sissoo* seedlings under water stress. Photosynthetica 41:407-414.

Spedding, C. R. W., J. M. Walshingham, and A. M. Hoxey. 1981. Biological Efficiency in Agriculture. Academic Press, London. 300 pp.

Tesfaya, K., S. Walker, and M. Tsubo. 2006. Radiation interception and radiation use efficiency of three grain legumes under water deficit condition in a semi-arid environment. Europ. J. Agron. 25:60-70.

Tezara, W., and D. W. Lawlor. 1995. Effects of water stress on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower. p.625-628. *In* : Photosynthesis : from Light to Biosphere (Mathis, M. ed.). Kluwer Acad. Pub., Dordrecht- Berlin-London.

Wise, R. R., D. H. Sparrow, A. Ortiz-Lopez, and D. R. Ort. 1991. Spatial distribution of photosynthesis during drought in field-growth and acclimated and non-acclimated growth chamber-growth cotton. Plant Physiol. 100:26-32.

Wullschleger, S. D., T. J. Tschaplinski, and R. J. Norby. 2002. Plant water relations at elevated CO_2-implications for water limited environment. Plant Cell Environ. 25:319-331.

Yang, L., J. Huang, H. Yang, G. Dong, G. Liu, J. Zhu, and Y. Wang. 2006. Seasonal changes in the effects of free-air CO_2 enrichment (FACE) on dry matter production and distribution of rice (*Oryza sativa L.*). Field Crops Res. 98:12-19.

Yao, M. H., S. H. Chen, and S. Chen. 2006. Studies on use efficiency of meteorological resources for rice. II. Water use efficiency. J. Taiwan Agric. Res. 55:43-56. (in Chinese with English abstract)

Yao, M. H., S. H. Chen, and L. S. Lien. 2005. Studies on meteorological resources use efficiency in rice. I. Radiation use efficiency. J. Taiwan Agric. Res. 54:123-134. (in Chinese with English abstract)

Studies on the Meteorological Resources Use Efficiency of Rice for Climate Change[1]

Ming-Hwi Yao[2,3], Shou-Hung Chen[2] and Kung-Shy Chi[2]

Abstract

Yao, M. H., S. H. Chen, and K. S. Chi. 2007. Studies on the meteorological resources use efficiency of rice for climate change. J. Taiwan Agric. Res. 56:31-44.

Anthropogenic emissions of carbon dioxide (CO_2) have serious impact on the global climate system. According to the report of IPCC, the change in global mean temperature of 1.4-5.8℃, accompanying with increased frequency of extreme weather events is likely to occur until 2100. From the view of agrometeorology, the use efficiency of meteorological resources for crop is one of important indices to evaluate the effects of climate change on agricultural production. In this study, radiation- and water-use efficiency for rice were measured using photosynthesis devices under high temperature, drought and enhanced carbon dioxide environment in order to assess the interactions among climate factors, different cultivars and physiological response of leaves. Experimental results showed that both the radiation-and water-use efficiency decreased under high temperature treatment. However, while elevated CO_2 concentration significantly increased the rate of leaf photosynthesis, the radiation use efficiency of tested rice raised by 10-70% depending on different cultivars. Because of the wilt of leaves, drought caused the drop of radiation use efficiency due to closed stomata. Nevertheless the fall in transpiration induced the increment of water use efficiency. In addition, for the combined treatment of three meteorological factors, the radiation use efficiency was lower by 30-40% than that of the normal environment while the water use efficiency was higher up to 29%.

Key word : Climate change, Radiation use efficiency, Water use efficiency, Rice.

---

1. Contribution No. 2278 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: February 26, 2007.
2. Respectively, Associate Researcher, Assistance and Assistant Researcher, Agricultural Engineering Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Corresponding author, e-mail: mhyao@wufeng.tari.gov.tw; Fax: (04)23338162.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 56(1):45~52 (2007)

植酸酵素基因轉殖之馬鈴薯植株生長和產量評估[1]

陳烈夫[2] 曾文彬[3] 魏夢麗[4] 呂秀英[4,5]

摘 要

陳烈夫、曾文彬、魏夢麗、呂秀英。2007。植酸酵素基因轉殖之馬鈴薯植株生長和產量評估。 台灣農業研究 56 :45-52。

馬鈴薯 (*Solanum tuberosum* L.) 是世界上最重要的非禾穀類糧食作物。基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系，是由克尼伯 (Kennebec) 品種轉殖植酸酵素基因 (phytase gene) 所產生的基因轉殖作物。根據在農業試驗所隔離試驗田進行的 2004-2005 年秋作試驗結果顯示，植酸酵素基因轉殖馬鈴薯在各生長期的主莖長、側枝數及地上部乾重等生長介量雖較克尼伯為低但未達統計上 5%顯著水準差異；單株薯球總鮮重雖稍低但亦無顯著差異。植酸酵素基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系可能不適合自行留種連續栽種，其第二年（2005 年）連續栽種之產量表現，小於 120 g 的薯球數量明顯減少。轉殖馬鈴薯在第四週時的出土率，也顯著低於非轉殖馬鈴薯。

關鍵詞：馬鈴薯、基因轉殖作物、植酸酵素基因、薯球產量、出土率。

前 言

馬鈴薯 (*Solanum tuberosum* L.) 為茄科茄屬之草本塊莖作物，在世界各地 100 多個國家廣泛栽培，其分布地域之廣僅次於玉米，繼水稻、小麥、玉米之後為第四大糧食作物。馬鈴薯的營養價值既豐富且具全面性，不僅可用做糧食、蔬菜，也是重要的飼料原料添加物 (Liang 2005)。馬鈴薯栽培種具有同源四倍體遺傳分離的特性，並存在不完全可育性，所以利用常規雜交育種需周期性長、過程複雜且需費大量勞力，而且現有的親本材料遺傳背景狹窄，很難在較短時間內育成理想的優良品種。隨著生物技術的興起和發展，植物育種中許多技術和方法已逐步應用到馬鈴薯之品種改良等研究，如馬鈴薯無病毒苗的繁殖、原生質體的再生、原生質體的融合、以及基因轉殖馬鈴薯的育種工作等 (Dale & Hampson 1995; Dunwell 2000)。基因轉殖技術在馬鈴薯的研究中已有許多成功的例子，目前用來進行馬鈴薯基因工程的外源基因有抗病毒、抗細菌、抗昆蟲的抗性基因，用來改良馬鈴薯品質的澱粉合成基因，以及蛋白質合成基因，還有抗除草劑基因及其它一些基因等 (Wenzler *et al*. 1989; Cornner 1994; Wang *et al*. 2005)。

目前畜牧產業中，植酸 (phytic acid) 方面之研究積極進行，植酸主要是以植酸鹽的形式廣泛存在於穀類籽實和油料作物種子的胚芽和糊粉層內，在各種作物植酸的存在部位有所不同，植物的花粉、根、塊莖等組織中也會累積植酸，這些植酸可用於代謝過程中營養物質的再分配。飼料中的

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2280 號。接受日期：2007 年 2 月 28 日。
2. 本所生物技術組助理研究員。 台灣 台中縣 霧峰鄉。
3. 中央研究院分子生物研究所計畫助理。台灣 台北市。
4. 本所作物組助理研究員與研究員。台灣 台中縣 霧峰鄉。
5. 通訊作者，電子郵件：iying@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23390528。

無機磷可直接由動物腸道所吸收，單胃動物胃中缺乏分解植酸的植酸酶 (phytase)，對植物性飼料中的磷利用率甚低，為滿足單胃動物對磷的需要，生產中不得不在飼料中添加無機磷，結果大量未被消化的磷隨糞便排放到自然環境中，對生態環境造成嚴重的威脅。為有效提高磷的利用率，在牲畜家禽的飼料中添加植酸酶，避免因磷的過多投入而帶來環境污染的問題。但添加植酸酶的成本較高，故目前還難以被廣泛採用。而將植酸酶基因轉殖至作物上，是可行的一條途徑 (Ravindran *et al*. 1995)，其能改善飼料中磷的消化率，意即可減少飼料配方中磷的使用。例如近年來，利用理化誘變與基因轉殖技術已成功地獲得了玉米、大麥、水稻和大豆等作物的低植酸突變體 (Larson *et al*. 2000)。至於將植酸酶基因轉殖至馬鈴薯植株上，為國內中央研究院余淑美博士所首創，其目的是藉此提高飼料的轉化率，最終達到節約糧食、提高動物的生產性能以及減輕養殖業所造成環境污染問題，這將對磷源嚴重匱乏而磷污染又嚴重的地區，其社會效益和生態效益無疑是鉅大的，亦頗具前膽性。目前有關植酸酶基因轉殖馬鈴薯對其田間生長和發育的瞭解還十分有限，而基因轉殖與非基因轉殖植株的生長差異比較是基因轉殖作物生態安全評估體系中最基本的一環。因此本研究的主要目的在比較植酸酶基因轉殖與非基因轉殖馬鈴薯在田間的生長發育及產量表現之差異，從而提供生態安全的資料參考。

材料與方法

馬鈴薯克尼伯 (Kennebec) 品種經轉殖植酸酵素基因之 2-1 品系與原轉殖受體品種 (wild type, WT) 為對照，於 2004 年和 2005 年在農業試驗所基因轉殖作物隔離試驗田進行兩年秋作安全評估試驗。2004 年秋作於 10 月 13 日種植，至 2005 年 1 月 20 日收穫；2005 年於 10 月 27 日種植，至 2006 年 2 月 13 日收穫。兩年試驗的種植方式、栽培管理和調查項目皆相同。

田間設計採 RCBD，六重複。將馬鈴薯切塊成 15~20 g 作為種薯，採一畦雙行式種植，行株距 60×30 cm，每行 20 株，每小區四畦計 160 株，故每品系共 160×6=960 株。栽培管理方式為基肥用量每公頃施用苦土石灰、雞糞、黑肥各 400 kg；追肥於其幼芽全部伸出土面時施用，即種植後 15 天及 30 天施第一次及第二次追肥，每公頃施用量為台肥 4 號複合肥料 400 kg，條施於距植株 10 cm 處而後培土；期間適時以人工防除雜草，並適時施用 5%陶斯松粒劑每公頃 20 kg 及噴施蘇力菌 1000 倍稀釋液以防治害蟲，收穫後田間整備作業皆以淹水進行處理，以防止病蟲害之發生。

由於在台灣地區種植馬鈴薯約 110 天即可收穫，因此兩品（種）系皆於種植後初期、中期和成熟期自各小區內進行取樣（2004 年各於第 7、9、14 週逢機取出 3、3、20 株，2005 年各於第 5、8 及 15 週逢機取出 5、4、20 株），分別調查主莖長、側枝數、地上部葉片乾重及地上部莖乾重等植株性狀，以及塊莖鮮重、塊莖數之產量性狀，收穫後所留種薯冷藏於 4℃冷藏庫中供第二年種植。另外，2005 年試驗並於種植後第 2 及 4 週分別調查各小區植株的出土率。最後，比較基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯之間的各種植株性狀、產量和出土率的表現差異。

結 果

植株性狀比較

2004 年秋作試驗期間由於在 10~11 月份遇到高溫，月平均最高溫度達 29~28°C，無論基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯皆有極少數植株有開花，但不結漿果；有早疫病發生，除此，植株生育情形

都相當正常。分別於種植後第 7、9、14 週調查主莖長、側枝數、地上部葉片乾重及地上部莖乾重等植株生長性狀，結果發現基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系於生長中期以後（種植後第 9 及 14 週時）這些植株生長性狀均略遜於對照組 (WT)，但未達統計上 5%顯著差異，如表 1 所示。

2005 年秋作試驗植株全生育期正常，狀況良好，沒有特別的病害發生。種植後分別於第 5、8、15 週調查主莖長、側枝數、地上部葉片乾重及地上部莖乾重等植株性狀，結果亦發現於生長中期後基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系的植株生長雖然較低，但與非基因轉殖馬鈴薯之間並無顯著差異(表 1)。

產量評估比較

2004 年秋作試驗兩品（種）系於種植後第 7、9、14 週所收穫的薯球總鮮重皆無顯著差異，在種植後第 14 週之成熟期的單株產量都可達 300 g 以上（表 2）。各調查時期所獲得的兩品（種）系薯球總數相當一致，進而考慮其市場經濟價值，大致以小薯≦50 g、51 g≦中薯≦100 g、大薯>100 g 進行分級，各分級的薯數均未達統計上 5%顯著差異（表 2）。在成熟期收穫時的兩品（種）系各分級薯球分配比例亦大致相同：小薯、中薯和大薯各約佔 45、25 和 30%（圖 1）。爲瞭解兩品（種）系於成熟期的薯球鮮重分佈趨勢，進而將所有薯球之鮮重，以每隔 20 公克爲組界，計算各組頻度後，

表 1. 2004 及 2005 年秋作基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯的植株生長性狀 [z] 比較

Table 1. The growth characteristics[z] of transgenic and non-transgenic potato plants in different growth periods in the fall of 2004 and 2005

Year	Weeks after planting	Cultivar[y]	Main stem length (cm)	Lateral stem no./plant	Shoot dry matter (g/plant)	
					Leaves	Stems
2004	7	WT	31.3±1.2	2.0±0.2	6.8±0.9	3.0±0.3
		2-1	30.9±0.9	2.0±0.2	7.5±0.7	3.4±0.4
	9	WT	38.5±1.3	1.6±0.2	12.3±0.9	3.6±0.3
		2-1	38.1±1.0	1.8±0.2	11.8±1.6	3.2±0.4
	14	WT	44.6±1.1	2.2±0.2	8.5±0.5	5.8±0.4
	(at maturity)	2-1	42.4±1.3	2.0±0.2	8.4±0.7	4.8±0.3
2005	5	WT	34.0±1.2	2.3±0.2	5.4±0.4	1.4±0.1
		2-1	32.3±0.9	1.9±0.4	5.0±0.6	1.2±0.3
	8	WT	37.2±1.6	1.5±0.3	6.7±0.7	1.5±0.2
		2-1	35.4±1.2	1.7±0.2	6.3±0.2	1.2±0.1
	15	WT	38.1±0.9	2.6±0.2	15.4±0.8	6.9±0.5
	(at maturity)	2-1	36.1±0.8	2.3±0.1	14.0±0.9	4.8±0.7

[z] Data indicate mean and its standard error of 6 replicates.

[y] WT, wild type (non-transgenic) potato (Kennebec); 2-1, transgenic potato (strain 2-1); For each growth period, no significant difference between cultivars was detected by LSD-test at 5% level.

分別繪製成頻度分佈圖（圖 2）和相對頻度分佈圖（圖 3），結果顯示 2004 年秋作試驗兩品（種）系於成熟期的薯球大小分布曲線相當一致，由小到大呈遞減趨勢。小於 20 g 的極小薯球，以基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系略多於非基因轉殖馬鈴薯，分配比例分別為 30 和 25%；20 g 以上的薯球數量及其所佔比例，兩品（種）系之間並無明顯差異；兩品（種）系雖都有大於 200 g 的超大薯但數量甚少，皆僅佔所有薯球的 2.5%左右（圖 3）。

2005 年秋作試驗兩品（種）系於種植後第 5、8、15 週所收穫的薯球總鮮重皆無顯著差異，在種植後第 15 週之成熟期的單株產量也都可達 300 g 以上（表 2）。然而在成熟期（種植後第 15 週）時，基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系能採收到的總薯數明顯較非基因轉殖馬鈴薯為少（兩品（種）系分別調查 120 株，各採收到 496 及 600 薯），約減產近兩成，其中主要是因為每株中薯的數量顯著減少（表 2）。在成熟期收穫時兩品（種）系的小薯所佔比例大致相同（約 40%），但由於基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系的中薯所佔比例變少，導致大薯所佔比例也隨之增加（圖 1）。進而從薯球鮮重的頻度分佈圖（圖 2）和相對頻度分佈圖（圖 3）得知，兩品（種）系的薯球大小呈現遞減的曲線分

表 2. 2004 及 2005 年秋作基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯的薯球產量 [z] 比較

Table 2. The tuber yield[z] of transgenic and non-transgenic potato plants in different growth periods in the fall of 2004 and 2005

Year	Weeks after planting	Cultivar[y]	Tuber fresh weight (g/plant)	Total tuber no. /plant no.	Tuber no. / plant			
					Total	Small (<50 g)	Medium (50-100 g)	Large (>100 g)
2004	7	WT	60.4±10.2	60/18	3.3±0.2	3.1±0.1	0.3±0.1	0.0±0.0
		2-1	64.6±11.3	62/18	3.4±0.4	3.3±0.4	0.1±0.1	0.0±0.0
	9	WT	215.2±23.9	77/18	4.5±0.5	2.6±0.3	1.2±0.3	0.7±0.2
		2-1	193.5±19.2	79/18	4.3±0.8	2.4±0.7	1.4±0.2	0.4±0.1
	14	WT	351.8±13.4	529/120	4.4±0.2	1.9±0.2	1.1±0.1	1.4±0.1
	(at maturity)	2-1	339.4±25.8	528/120	4.4±0.3	2.0±0.2	1.0±0.1	1.3±0.1
2005	5	WT	12.3± 2.6	154/30	5.1±0.5	5.1±0.5	0.0±0.0	0.0±0.0
		2-1	8.6± 4.0	149/30	5.0±0.6	5.0±0.6	0.0±0.0	0.0±0.0
	8	WT	100.8±13.1	86/24	3.6±0.2	2.8±0.3	0.8±0.2	0.0±0.0
		2-1	99.7± 6.6	89/24	3.7±0.4	2.9±0.5	0.8±0.1	0.0±0.0
	15	WT	388.0±26.6	600/120	5.0±0.4 a	2.1±0.3	1.4±0.2 a	1.5±0.1
	(at maturity)	2-1	336.3±24.4	496/120	4.1±0.5 b	1.6±0.4	1.1±0.2 b	1.4±0.1

[z] Data indicate mean and its standard error of 6 replicates.

[y] WT, wild type (non-transgenic) potato (Kennebec); 2-1, transgenic potato (strain 2-1); For each growth period, no significant difference between cultivars was detected by LSD-test at 5% level, excluding tuber number at harvest; a,b indicate significant difference between cultivars at 5% level.

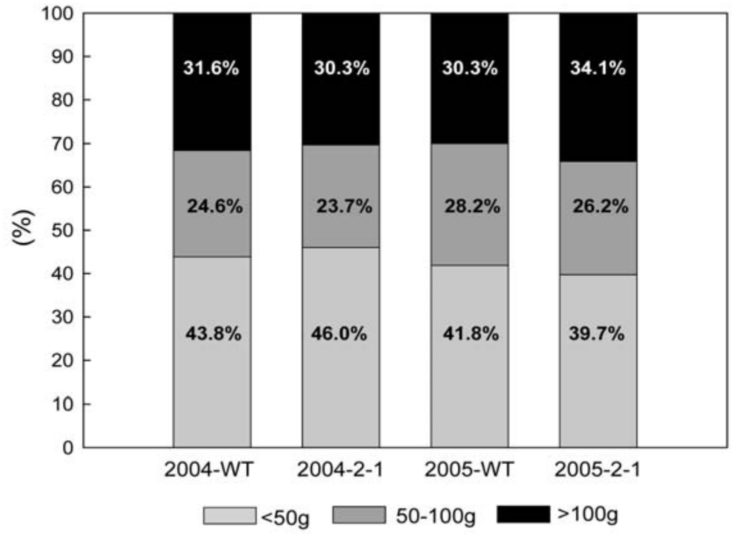

圖 1. 2004 及 2005 年秋作基因轉殖 (2-1) 和非基因轉殖馬鈴薯 (WT) 於成熟收穫時各級薯球的分配比例。

Fig. 1. Distribution of tuber grade based on weight for transgenic (2-1) and non-transgenic (WT) potato plants harvested at maturity in the fall of 2004 and 2005.

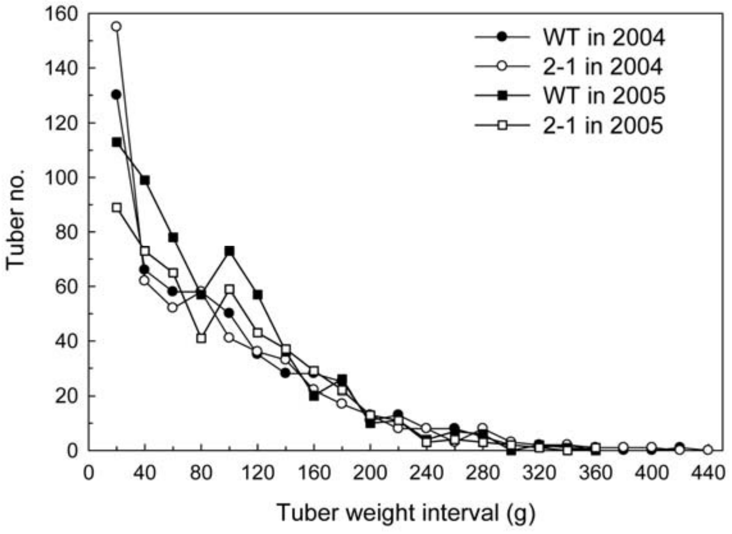

圖 2. 2004 及 2005 年秋作基因轉殖 (2-1) 和非基因轉殖 (WT) 馬鈴薯於成熟收穫時的薯球大小之頻度分布。（薯球鮮重組界=20 g）

Fig. 2. Frequency distribution of tuber size for transgenic and non-transgenic potato plants harvested at maturity in the fall of 2004 and 2005. (class interval of tuber fresh weight=20 g).

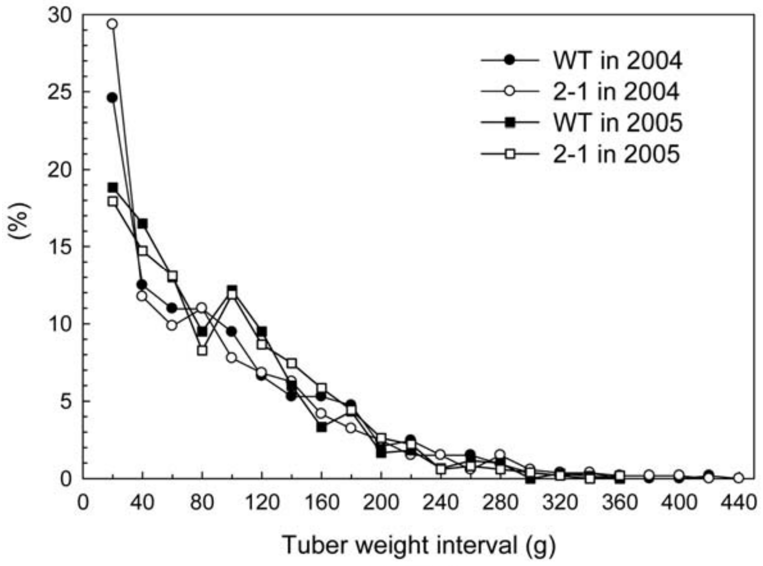

圖 3. 2004 及 2005 年秋作基因轉殖 (2-1) 和非基因轉殖 (WT) 馬鈴薯於成熟收穫時的薯球大小之相對頻度分布。(薯球鮮重組界=20 g)

Fig. 3. Relative frequency distribution of tuber size for transgenic and non-transgenic potato plants harvested at maturity in the fall of 2004 and 2005. (class interval of tuber fresh weight=20 g).

表 3. 2005 年秋作基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯的出土率 [z] 比較

Table 3. The emergence rate[z] of transgenic and non-transgenic potato in fall 2005

Cultivar[y]	Emergence rate (%) after planting	
	2nd week	4th week
WT	58.3±8.9 a[x]	95.5±2.0 a
2-1	56.2±8.3 a	90.8±1.9 b

[z] Data indicate mean and its standard error of 6 replicates.

[y] WT, wild type (non-transgenic) potato (Kennebec); 2-1, transgenic potato (strain 2-1).

[x] Within columns, means followed by the different letter are significantly different by LSD-test at 5% level.

布，小於 20 g 的極小薯皆約佔 20%左右，大於 200 g 的超大薯爲數少，約僅佔 2.5%；同時發現，其實基因轉殖馬鈴薯在 120 g 以下的薯數均少於非基因轉殖馬鈴薯（圖 2），故其所佔比例亦較非基因轉殖馬鈴薯略少些，約減少 1~2%（圖 3）。

出土率比較

於 2005 年秋作試驗種植後第 2 及 4 週分別調查馬鈴薯植株的出土率，結果如表 3 所示，對照之克尼伯品種分別爲 58.3%及 95.5%，基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系分別爲 56.2%及 90.8%，兩品（種）

系在第 4 週時的出土率達到 5%顯著水準之差異性，顯示基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系的生長勢有較弱之趨勢。

討　　論

由兩年秋作試驗得知，相較於原轉殖受體的對照品種，基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系的生長勢顯著較弱，生長中期後的主莖長、側枝數、地上部葉片乾重及地上部莖乾重等生長介量雖也稍弱小但未達統計上 5%顯著差異，單株產量雖稍低但並無顯著差異，成熟期時的薯球大小分配大致相同，惟在 2005 年秋作時 120 g 以下的薯球數量顯著較少。由此可見，由克尼伯品種轉殖植酸酵素基因所產生之轉殖植物的植株生長和產量性狀皆呈現略弱，而且可能不適於自行留種連續栽種，在第二年 (2005 年) 連續栽種下 120 g 以下的薯球數量明顯變少，尤其是具有市場經濟價值之 50~100 g 的中薯顯著較非基因轉殖馬鈴薯為少。

近年來基因轉殖作物的生態安全性評估之科學的體系，已漸具雛型，且一致公認進行基因轉殖與非基因轉殖植株間的生長差異比較，是基因轉殖作物生態安全評估體系中最基本的一環，不可或缺。因此，本研究結果對於植酸酵素基因轉殖馬鈴薯之安全性評估提供依據。

引用文獻 (Literature cited)

Cornner, A. J. 1994. Biosafety assessment of transgenic potatoes: environmental monitoring and food safety evaluation. p.1-12. *in*: the Proceeding of the 3rd International Symposium on the Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms. (Jones, D. D. eds.). California Univ., Oakland, California.

Dale, P. J., K. K. Hampson. 1995. An assessment of morphogenic and transformation efficiency in a range of varieties of potato (*Solanum tuberosum* L.). Euphytica 85:101-108.

Dunwell, J. M. 2000. Transgenic approaches to crop improvement. J. Exp. Botany 51:487-496.

Larson, E. R., J. N. Rutger, K. A. Young, and V. Raboy. 2000. Isolation and genetic mapping of a non-lethal rice (*Oryza sativa* L.) low phytic acid 1 mutation. Crop Sci. 40:1397-1405.

Liang, Y. F. 2005. Introduction, evaluation and utilization of potato genetic resources from international potato center (CIP). Southwest China J. Agric. Sci. 18:814-817. (in Chinese with English abstract)

Ravindran, V., W. L. Bryden, and E. T. Kornegay. 1995. Phytase:occurrence, bioavailability and implication in poultry nutrition. Poultry Avian Biol. Rev. 6:125-143.

Wang, Q., H. Y. Huang, Y. L. Chen, and D. Wang. 2005. Variation of polyphenol oxidase activity and isozyme in transgenic homozygous tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.). Acta Agronomica Sinica 31:1162-1166. (in Chinese with English abstract)

Wenzler, H., G. Mignery, G. May, and W. Park. 1989. A rapid and efficient transformation method for the production of large number of transgenic potato plant. Plant Sci. 63:79-85.

Plant Growth and Yield Evaluation of Phytase Transgenic Potato[1]

Lit-Fu Chan[2], Wen-Pin Tseng[3], Meng-Li Wei[4] and Hsiu-Ying Lu[4,5]

Abstract

Chan, L. F., W. P. Tseng, M. L. Wei and H. Y. Lu. 2007. Plant growth and yield evaluation of phytase transgenic potato. J.Taiwan Agric. Res. 56:45-52.

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is the most important noncereal food crop in the world. The transgenic potato plants, strain 2-1, were obtained by phytase-gene transformation into their original plants, cv. 'Kennebec'. Here, we carried out an isolated field experiment to compare the plant growth and yield performance of both phytase transgenic and non-transgenic potato plants at Agricultural Research Institute in the fall of 2004 and 2005. The results showed that the transgenic potato plants were slightly lower than non-transgenic potato plants in main stem length, lateral stem length, shoot dry matter and tuber fresh weight in three different growth periods, but the differences were not statistically significant ($p>0.05$). The transgenic potato plants harboring phytase gene might not favor continuous cultivation using harvested seed potatoes because of significant number reduction of tuber with less than 120 g in the second-year cropping (2005).Phytase transgenic potato showed a significantly lower emergence rate than non-transgenic potato at 4 weeks after planting.

Key words: Potato, Genetically modified crops, Phytase gene, Tuber yield, Emergence rate.

1. Contribution No.2280 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted :February 28, 2007.
2. Assistant Researcher, Biotechnology Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Project Assistant, Institute of Molecular Biology, Academia Sinica, Taipei, Taiwan, ROC.
4. Respectively, Assistant Researcher and Senior Researcher, Crop Science Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
5. Corresponding author, e-mail: iying@wufeng.tari.gov.tw; Fax: (04)23390528.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 56(1):53~64 (2007)

植物生長調節劑與光照處理對延胡索癒合組織增生與小塊莖形成之影響 [1]

陳威臣[2] 蕭翌柱[2] 蔡新聲[3] 夏奇鈮[2, 4]

摘　　要

陳威臣、蕭翌柱、蔡新聲、夏奇鈮。2007。植物生長調節劑與光照處理對延胡索癒合組織增生與小塊莖形成之影響。台灣農業研究 56:53-64。

本研究藉由植物生長調節劑與光照處理促進重要中藥植物-延胡索 (*Corydalis yanhusuo* W. T. Wang) 癒合組織與小塊莖之大量增殖。試驗結果顯示，塊莖來源癒合組織培養於添加 1 mg/L 奈乙酸 (α-naphthaleneacetic acid, NAA) 與 1 mg/L 塞苯隆 (thidiazuron, TDZ) 之 MS (Murashige & Skoog 1962) 基本培養基，於黑暗環境培養 4 週增重可達 11 倍。癒合組織於光照培養下之增生效率較暗培養差，但光照可促進小塊莖形成與體胚分化。癒合組織培養於含有 0.5-2 mg/L 吲哚乙酸 (indole-3-acetic acid, IAA)、吲哚丁酸 (indole-3-butyric acid, IBA) 或不含生長調節劑之 MS 基本培養基，於光照環境下小塊莖的形成率最佳，每 0.2 g 癒合組織培養 4 週後小塊莖形成數在 23-28 個之間。綜合以上結果顯示，延胡索種苗大量繁殖可利用兩階段培養策略，先藉由 NAA 配合 TDZ 組合之處理促進癒合組織大量增生，而後再於光照培養條件下，以不含植物生長調節劑或低劑量 (0.5 mg/L) 之 IBA 誘導小塊莖種苗大量形成。

關鍵詞：延胡索、藥用植物、微體繁殖、塞本隆。

前　　言

延胡索 (*Corydalis yanhusuo* W. T. Wang) 爲紫堇科 (Fumariaceae)、紫堇屬 (*Corydalis*) 之多年生草本植物，其乾燥塊莖爲重要中藥材，具有活血化瘀、鎮痙、鎮痛等功效；延胡索塊莖含延胡索甲素 (d-corydaline)、延胡索乙素 (dl-tetrahydropalmatine) 與小蘗鹼 (berberine) 等生物鹼類藥用成分，具有鎮靜止痛、抗菌、擴張支氣管及治療冠心病等藥理作用 (Stuart 1987；Sagare *et al*. 2000a，2000b；Tang & Eisenbrand 1992；Xu *et al*. 2004；Yen 1997)。近年來，由於生態環境變化與大量採摘已造成野生延胡索瀕臨枯竭，目前之生產逐漸以人工栽培爲主，但各地野生與栽培藥材之品質不一；傳統栽培因種子具休眠性導致發芽狀況不佳，而塊莖繁殖體又易受土生真菌病害侵襲等缺點，爲確保中藥材基原正確安全無虞，且其健壯種苗不致匱乏，開發延胡索組織培養大量繁殖種苗技術遂成爲重要之課題 (Geo *et al*. 1991；Hu 1998；Hu & Liang 1996；Sagare *et al*. 2000b；Xu *et al*. 2004)。

Sagare *et al*. (2000a) 研究中指出可利用延胡索塊莖誘導體胚形成，並藉由施用離層酸 (abscisicacid; ABA) 等生長抑制劑可獲得小塊莖，且更進一步將體胚苗移植馴化得到外觀形態正常

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2281 號。接受日期：2007 年 2 月 28 日。
2. 本所生技組助理研究員、助理研究員及副研究員。台灣省 台中縣 霧峰鄉。
3. 朝陽科技大學生物技術研究所教授。台灣省 台中縣 霧峰鄉。
4. 通訊作者，電子郵件：hsia@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04) 23302806。

之延胡索小植株。Kuo *et al*. (2002) 利用掃描式電子顯微鏡與組織切片研究指出，延胡索二次胚係發生於胚軸表皮細胞層，且後續體胚培養試驗中亦觀察到小塊莖形成之情形。然而，有關延胡索癒合組織增生與小塊莖形成效率等問題則少有研究報導 (Zhang 2003；Hiraoka *et al*. 2001；Nanawada *et al*. 2003)。本研究藉由生長素 (auxin) 與細胞分裂素 (cytokinin) 的單獨或組合使用，並配合黑暗與光照環境培養處理，分別促進延胡索癒合組織增生與調控小塊莖形成，希望藉由快速之癒合組織形成小塊莖繁殖途徑，大量供應延胡索種苗與產業二次代謝物原物料之所需。

材料與方法

本研究依據 Sagare *et al*. (2000a) 之方法，利用延胡索 (*Corydalis yanhusuo* W. T. Wang) 塊莖切片 (25 mm^2，厚約 1-2 mm) 為培養體，接種於添加 2 mg/L N^6-benzyladenine (BA) 及 0.5 mg/L α-naphthaleneacetic acid (NAA) 之 MS (Murashige & Skoog 1962) 基本鹽類培養基中誘導癒合組織形成，癒合組織每 4 週繼代培養於相同組成之新鮮培養基使其增生，並供做為下述試驗材料之用。

本研究處理之培養基皆以 MS 無機鹽類及維生素，並添加 3%蔗糖及 1% Difco Bacto-agar 為基本配方。培養基於加入凝膠物質 (1% Difco Bacto-agar) 前，先以 0.5 N NaOH 或 HCl 將 pH 值調至 5.7±0.1，而後以 121℃及 1.05 kg/cm^2 之條件滅菌 20 分鐘後冷卻備用。在單一植物生長調節劑處理試驗中，利用添加 0、0.5、1、2 及 4 mg/L 之不同生長素 (auxin)，包括 NAA、2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)、indoleacetic acid (IAA) 及 indolebutyric acid (IBA)，或細胞分裂素 (cytokinin)，包括 BA、thidiazuron (TDZ)、6-furfurylamino purine (kinetin) 及 zeatin 之 MS 基本培養基，進行癒合組織之增生試驗。在植物生長調節劑組合處理試驗中，則以濃度為 0.5、1 及 2 mg/L 之 NAA 配合相同濃度之上述四種細胞分裂素組合之 MS 基本培養基，測試癒合組織增生之效果。取鮮重約 1 g （0.2 g/團，5 團/培養皿）之癒合組織接種於含有 25 mL 培養基之塑膠培養皿，置於恆溫 25±2℃之黑暗環境中培養 4 週後，調查各試驗所得之癒合組織鮮重；或於光照強度 38 μm/m^2/s^2 (2,500-3,000 Lux)、光週期 16 hr 的環境下培養 8 週後，調查各試驗所得之癒合組織鮮重與小塊莖數量。

試驗所得資料經 SAS 套裝統計分析軟體進行 ANOVA 變方分析後，若處理間差異顯著，則利用 Least Signification Difference (LSD) test 比較各處理平均值間之差異。

結　果

生長素或細胞分裂素處理於暗培養下對延胡索癒合組織增生之影響

延胡索癒合組織培養於含有 0 - 4 mg/L 之不同生長素培養基中，暗培養 4 週之結果如表 1 所示。就生長素種類而言，以添加 2,4-D 或 NAA 之處理對癒合組織之增生促進效果較佳，其中以 1 mg/L NAA 處理增生達 1.51 g，是不含生長調節劑對照組的 2.4 倍。IAA 與 IBA 處理對於癒合組織增生均不具明顯促進作用。延胡索癒合組織於含有 0 - 4 mg/L 之不同細胞分裂素培養基中，經暗培養 4 週後結果如表 2 所示。四種細胞分裂素類型中，以 TDZ 處理對癒合組織增生之效果較佳，1 mg/L TDZ 處理之癒合組織鮮重達 2.08 g，是對照組癒合組織鮮重的 3.3 倍。相反的在 0.5-1 mg/L 濃度處理下，kinetin 與 zeatin 兩種細胞分裂素對癒合組織增生無促進的效果；在 BA 處理濃度中則僅有低濃度 (0.5 mg/L) 有利於延胡索癒合組織的增生。

表 1. 生長素類型及濃度處理於暗培養下對延胡索癒合組織增生之影響 [z]

Table1. Effects of different auxin types and concentration on callus proliferation of *Corydalis yanhusuo* in darkness [z]

Auxin concentration (mg/L)	Callus fresh weight (g) [y]			
	IAA	IBA	2,4-D	NAA
0	0.64 a	0.64 a	0.63 b	0.63 c
0.5	0.33 c	0.63 a	1.11 a	1.10 b
1	0.40 bc	0.62 a	1.11 a	1.51 a
2	0.43 abc	0.50 ab	0.97 a	1.31 a
4	0.55 ab	0.42 b	0.85 a	1.00 b

[z] Callus was cultured on MS basal medium supplemented with 3% sucrose, 1% Difco Bacto-agar and various types and concentration of auxin.

[y] Fresh weight was collected from the proliferated callus after 4 weeks of culture. Means of 20 samples in column with the same letters are not significantly different at 5% by LSD test.

表 2. 細胞分裂素類型及濃度處理於暗培養下對延胡索癒合組織增生之影響 [z]

Table 2. Effects of different cytokinin types and concentration on callus proliferation of *Corydalis yanhusuo* in darkness [z]

Cytokinin concentration (mg/L)	Callus fresh weight (g) [y]			
	Kinetin	Zeatin	BA	TDZ
0	0.63 a	0.64 a	0.63 b	0.64 c
0.5	0.59 a	0.60 a	1.10 a	1.44 b
1	0.63 a	0.70 a	0.78 ab	2.08 a
2	0.53 a	0.63 a	0.75 ab	1.94 ab
4	0.55 a	0.66 a	0.52 b	1.21 bc

[z] Callus was cultured on MS basal medium supplemented with 3% sucrose, 1% Difco Bacto-agar and various types and concentration of cytokinin.

[y] Same as Table 1.

生長素 NAA 與細胞分裂素濃度組合處理於暗培養下對延胡索癒合組織增生之影響

利用 NAA 組合四種細胞分裂素- TDZ、BA、kinetin 與 zeatin 進行癒合組織暗培養試驗，使用之濃度則分別為 0.5、1 及 2 mg/L。試驗結果如表 3 所示，就 NAA 組合不同細胞分裂素種類而言，以 TDZ 及 BA 之組合處理對癒合組織增生的促進效果較佳;其中 1 mg/L NAA 組合 1 mg/L TDZ 處理之癒合組織最重可達 2.19 g，是對照組處理的 3.5 倍，增重效果最高；其餘 NAA+TDZ 之組合處理均有增重之效果,其鮮重分別約為對照組處理之 1.7-3.5 倍。在 NAA 結合 BA 之處理組合中,以 1 mg/L NAA+2 mg/L BA 處理所得鮮重達 1.95 g 較重，其他 0.5 mg/L NAA+1 或 2 mg/L BA 兩處理間亦佳。

表 3. 生長素 NAA 與細胞分裂素類型及濃度組合處理於暗培養下對延胡索癒合組織增生之影響

Table 3. Effects of NAA in combination with different cytokinin types and concentration on callus proliferation of *Corydalis yanhusuo* in darkness [z]

Concentration (mg/L)		Callus fresh weight (g) [y]			
NAA	Cytokinin	TDZ	BA	Kinetin	Zeatin
0	0	0.62 b	0.64 d	0.65 b	0.64 bc
0.5	0.5	1.58 ab	1.04 cd	0.97 b	0.56 bc
0.5	1	2.09 a	1.69 a	1.03 ab	0.38 c
0.5	2	2.06 a	1.55 ab	1.09 ab	0.49 c
1	0.5	1.88 a	1.01 cd	0.89 bc	0.86 bc
1	1	2.19 a	1.23 bc	1.04 ab	0.72 bc
1	2	1.06 bc	1.95 a	1.19 a	1.03 b
2	0.5	2.13 a	1.17 c	1.04 ab	1.56 a
2	1	1.15 ab	1.26 bc	1.16 a	0.84 bc
2	2	2.07 a	1.09 c	1.09 ab	0.69 bc

[z] Callus was cultured on MS basal medium supplemented with 3% sucrose, 1% Difco Bacto-agar and various plant growth regulator combinations.

[y] Same as Table 1.

此外，NAA+kinetin 試驗之處理所得之癒合組織鮮重介於 0.89-1.19 g 之間，除低濃度 0.5 mg/L kinetin 與低濃度 NAA（0.5-1 mg/L）之處理組合及對照組較差外，其餘各處理間差異並不顯著。而 NAA+zeatin 試驗處理組合中，除 2 mg/L NAA+0.5 mg/L zeatin 處理所得癒合組織鮮重為 1.56 g 較高外，其餘處理組合所得癒合組織鮮重僅介於 0.38-1.03 g 之間，與對照組間並無顯著差異存在。

生長素與細胞分裂素於光照培養下對延胡索小塊莖形成之影響

光照環境下培養之癒合組織，在所有試驗處理組合下均呈現鮮明的鵝黃色（圖 1A），培養過程中可觀察到小塊莖（圖 1B）及體胚與體胚苗形成（圖 1C、1D），且於後續繼代培養中體胚可繼續發育成為體胚苗（圖 1E）。延胡索癒合組織在不同濃度之生長素處理，於光照環境下培養 8 週後所得小塊莖之結果如表 4 所示，在四種生長素處理中，2,4-D 處理嚴重抑制小塊莖形成，其他三種生長素之濃度處理中，除了 IAA 與 NAA 在較高濃度處理下 (4 mg/L) 之小塊莖形成數較少外（分別為 12.2 及 15.1 個），其餘處理所得小塊莖數與對照組相較下並無顯著差異。光照培養下之細胞分裂素試驗結果如表 5 所示，其中 0-2 mg/L kinetin 處理與 0-1 mg/L zeatin 處理與其各別對照組之間並無顯著差異，但隨著處理濃度增加則小塊莖形成數有減少的趨勢。然而 BA 與 TDZ 之所有濃度處理下均不利於小塊莖形成，其中含有 BA 之處理的小塊莖形成數約為 1.7-10.1 個，與對照組織 25.1 個小塊莖形成的結果呈顯著差異。而含有 TDZ 之處理僅獲得約 1.5-3.6 個小塊莖，與對照組織 18.5 個小塊莖形成的結果亦呈顯著差異，對於延胡索小塊莖形成之抑制最為嚴重。

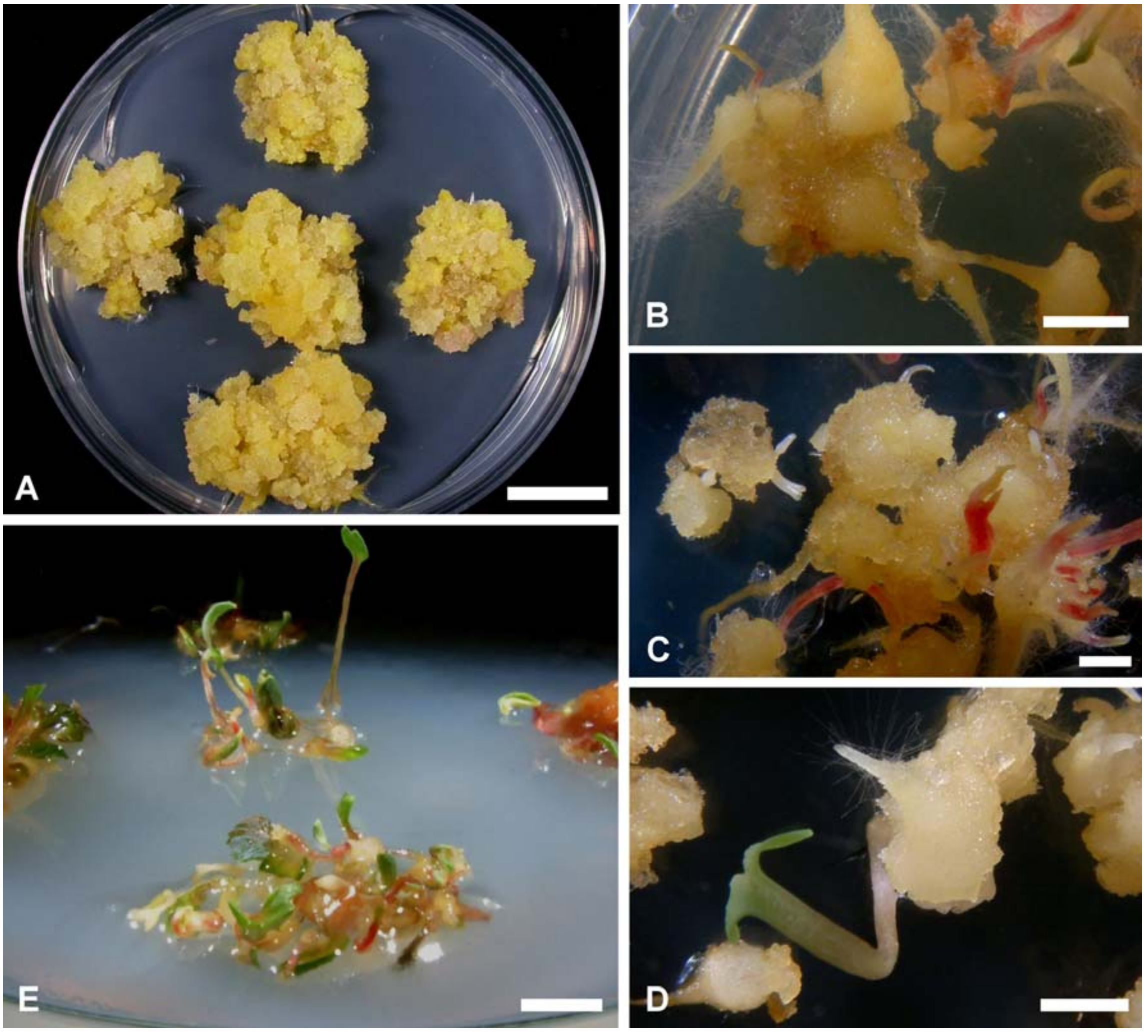

圖 1. 延胡索癒合組織增生與小塊莖形成之情形。癒合組織培養於含有 1 mg/L NAA、1 mg/L TDZ、3%蔗糖及 1% Difco Bacto-agar 之 MS 基本培養基，暗培養 4 週後之癒合組織大量增生情形，Bar = 15 mm (A)；癒合組織培養於含有 0.5 mg/L IBA、3%蔗糖及 1% Difco Bacto-agar 之 MS 基本培養基，光照培養 8 週後之小塊莖，Bar = 5 mm (B)；體胚與體胚苗，Bar = 2.5 mm (C, D) 形成情形；而後將體胚苗移植培養於不含植物生長調節劑之 1/2MS 基本培養基，光照培養 4 週後之體胚苗生長情形，Bar = 5 mm (E)。

Fig. 1. *In vitro* callus proliferation and mini-tuber formation of *Corydalis yanhusuo*. Callus proliferated on MS basal salts medium containing 1 mg/L NAA, 1 mg/L TDZ, 3% sucrose, and 1% Difco Bacto-agar in darkness for 4 weeks of culture, Bar = 15 mm (A), and mini-tubers, Bar = 5 mm (B); somatic embryo (SE) and somatic seedling formatted on MS basal salts medium containing 0.5 mg/L IBA 3% sucrose, and 1% Difco Bacto-agar under light condition for 8 weeks of culture , Bar = 2.5 mm (C, D); Somatic seedling grew-up on half-strength MS basal medium without phytohormone for 4 weeks of culture, Bar = 5 mm (E).

表 4. 生長素類型及濃度處理於於光照培養下對延胡索小塊莖形成之影響 z

Table 4. Effects of auxin types and concentration on mini-tuber formation of *Corydalis yanhusuo* callus under light culture conduction z

Auxin concentration (mg/L)	Mini-tuber formation (Number) y			
	IAA	IBA	2,4-D	NAA
0	24.2 a	24.0 a	20.0 a	24.4 a
0.5	25.1 a	28.4 a	7.2 b	20.0 a
1	26.1 a	25.2 a	3.1 b	19.5 a
2	23.4 a	25.7 a	3.3 b	21.2 a
4	12.2 b	23.7 a	2.5 b	15.1 b

z Callus was cultured on MS basal medium supplemented with 3% sucrose, 1% Difco Bacto-agar and various types and concentration of auxin.

y Number of mini-tubers were collected from the proliferated callus after 8 weeks of culture. Means of 20 samples in column with the same letters are not significantly different at 5% by LSD test.

表 5. 細胞分裂素類型及濃度於光照培養下對延胡索小塊莖形成之影響 z

Table 5. Effects of cytokinins types and concentration on mini-tuber formation of *Corydalis yanhusuo* callus under light culture condition z

Cytokinin concentration (m g/L)	Mini-tuber formation (Number) y			
	Kinetin	Zeatin	BA	TDZ
0	21.5 a	22.5 a	25.1 a	18.5 a
0.5	13.5 ab	21.6 a	10.1 b	1.9 b
1	14.5 ab	12.2 ab	6.3 bc	1.5 b
2	12.2 ab	9.9 b	2.1 c	3.1 b
4	6.9 b	7.8 b	1.7 c	3.6 b

z Callus was cultured on MS basal medium supplemented with 3% sucrose, 1% Difco Bacto-agar and various types and concentration of cytokinin.

y Same as Table 4.

生長素 NAA 與不同細胞分裂素濃度組合處理於光照培養下對延胡索塊莖形成之影響

利用 NAA 組合四種細胞分裂素- TDZ、BA、kinetin 與 zeatin 進行癒合組織光照培養試驗，使用之濃度則分別為 0.5、1 及 2 mg/L。試驗結果顯示添加 NAA 與 TDZ 之組合處理僅形成約 0.5-4.3 個小塊莖，較對照處理的 18.3 個小塊莖為低，顯然嚴重抑制小塊莖形成（表 6）。在 NAA 結合 BA 之處理組合中，以 1 mg/L NAA + 1 mg/L BA 處理所得小塊莖數達 16.9 個最高，但與對照組處理之 16.5 個小塊莖形成並無顯著差異，而其餘組合之小塊莖形成數則約為 8.6-12.4 個，處理間均無顯著差異存在。在 NAA + kinetin 試驗處理組合中，以 0.5 mg/L NAA + 0.5 mg/L kinetin 與 2 mg/L NAA + 1 mg/L kinetin 處理所得小塊莖數達 22.5 個與 16.8 個較佳，且與對照組處理間並無顯著差異外，其他處理

表 6. 生長素 NAA 與細胞分裂素濃度組合處理於光照培養下對延胡索小塊莖形成之影響 [z]

Table 6. Effects of NAA in combination with different cytokinin types and concentration on mini-tuber formation of *Corydalis yanhusuo* under light culture condition [z]

Concentration (mg/L)		Tuber formation [y](Number)			
NAA	Cytokinins	TDZ	BA	Kinetin	Zeatin
0	0	18.3 a	16.5 a	19.9 a	17.6 a
0.5	0.5	1.2 b	11.0 b	22.5 a	10.4 ab
0.5	1	1.6 b	10.1 b	8.8 de	2.5 d
0.5	2	3.6 b	10.7 b	11.8 cd	9.2 ab
1	0.5	4.3 b	12.4 b	13.1 cd	0.8 d
1	1	1.9 b	16.9 a	11.3 cd	7.2 bc
1	2	1.1 b	8.6 b	6.6 de	5.4 cd
2	0.5	0.5 b	10.6 b	15.3 bc	3.0 d
2	1	1.1 b	9.8 b	16.8 ab	1.3 e
2	2	2.0 b	9.5 b	10.3 cde	2.6 d

[z] Callus was cultured on MS basal medium supplemented with 3% sucrose, 1% Difco Bacto-agar and various cytokinin types and concentration combination.

[y] Same as Table 4.

與對照組平均值間均存在顯著差異，小塊莖數則介於 6.6-15.3 個。而 NAA + zeatin 試驗處理組合中，除了 0.5 mg/L NAA + 0.5 及 2 mg/L zeatin 處理與對照組所得小塊莖數無顯著差異外，其他處理組合之小塊莖形成數則介於 0.8-7.2 個，均低於對照組處理的 17.6 個小塊莖。

討　論

Sagare *et al*. (2000a) 與 Kuo *et al*. (2002) 利用延胡索 (*C. yanhusuo*) 小塊莖誘導體胚與二次胚形成，本研究則進一步探討癒合組織增生及小塊莖形成效率之影響因子。癒合組織常添加生長素以促進其增生，在四種常用生長素 (IAA、IBA、NAA 及 2,4-D) 中，一般認爲 2,4-D 對於癒合組織誘導之能力最強，在較低濃度時即可促進癒合組織之增生 (Gaspar *et al*. 1996；George 1993) 。當歸 (*Angelica sinensis*) 的研究結果顯示，2,4-D 對誘導癒合組織之效果比 NAA 好，而利用較低的 2,4-D 濃度處理對於癒合組織增生之效果較佳 (Zhang & Cheng 1989)。同樣地，台灣白芷 (*Angelica dahurica* var. *formosana*) (Chang *et al*. 1993) 與高氏柴胡 (*Bupleurum kaoi*) (Chen *et al*. 2005) 的研究中亦有類似的結果。本研究結果顯示雖 0.5-1 mg/L 2,4-D 處理雖亦具有癒合組織增生之效果，但以 1-2 mg/L NAA 處理對於促進癒合組織增生之效果更佳，顯示癒合組織增生對生長素之反應可能因爲植物不同而有所差異，而適當之生長素濃度方可有助於癒合組織增生。此外，本研究並未測試低於 0.5 mg/L 濃度之 2,4-D，對於更低濃度之 2,4-D 是否具有較佳的增生效果則有待進一步探討。

細胞分裂素具有促進細胞分裂與生長之生理作用，因此常用於促進癒合組織增生 (Gaspar *et al*. 1996；George 1993)。本研究單獨施用細胞分裂素的結果顯示，在四種參試細胞分裂素處理中，僅 TDZ 處理對延胡索癒合組織增生具有顯著效果；此外，綜合比較細胞分裂素及生長素處理對癒合組織增生之效果，則 TDZ 處理對延胡索癒合組織增生是所有參試植物生長調節劑中效果最佳者。Hiraoka *et al*. (2004) 在東北延胡索 (*C. ambigua*) 研究亦指出，TDZ 濃度提高具有促進癒合組織增生的效果。此外，在當歸 (*A. sinensis*) (Zhang & Cheng 1989) 與台灣白芷 (*A. dahurica* var. *formosana*) (Chang *et al*. 1993) 的研究皆指出，將細胞分裂素與生長素組合使用對於癒合組織增生之效果較單獨施用生長素之處理佳。本研究以細胞分裂素組合生長素施用的結果則顯示，在四種參試細胞分裂素處理中，除了低濃度 (0.5 mg/L) NAA 配合 1-2 mg/L zeatin 之組合對癒合組織增生顯示些微抑制效果外，其餘處理組合對延胡索癒合組織增生均具有顯著促進之效果，其中以 NAA 配合 TDZ 的處理組合對延胡索癒合組織之增重效果最佳。Zhang *et al*. (1991) 指出，單獨使用 kinetin 對於延胡索癒合組織生長並不佳，但若配合 0.1-0.2 mg/L NAA 則可有利於癒合組織增生。本研究結果亦顯示單獨施用細胞分裂素之處理的癒合組織增生相對於組合處理 (auxin + cytokinin) 之效果較低，與上述多數研究結果相似。在齒瓣延胡索 (*C. remota*) 癒合組織增生研究顯示，2,4-D 或 NAA 組合細胞分裂素 (BA 或 kinetin) 處理效果並未優於 2,4-D 與 NAA 單獨施用，顯示添加細胞分裂素的種類與濃度對癒合組織之增生具有不同的影響 (Zhang 2003)。

不同植物間的細胞分化對光照處理有著不同的反應，如 Nigra *et al*. (1989) 指出暗培養銀葉龍葵 (*Solanum eleagnifolium*) 的癒合組織生長良好；而 Zhang (2003) 於齒瓣延胡索 (*C. remota*) 之研究報導，光照處理有助於增加癒合組織之鮮重與乾重。本研究結果顯示光照培養並不利於癒合組織增生，主要原因是因爲光照培養會影響癒合組織之形態發育，在光照處理下具有促進小塊莖形成與體胚分化的效果。就光照處理對小塊莖形成而言，光照有利於薯蕷屬 (*Dioscorea* sp.) 植物小塊莖形成，而馬鈴薯 (*Solanum tuberosum*) 小塊莖形成則是以暗培養條件較佳 (George 1993)；本研究結果顯示光照培養有助於延胡索小塊莖形成。Sagare *et al*. (2000a) 指出，藉由離層酸 (abscisic acid; ABA)、多效唑 (paclobutrazol)、環丙嘧啶醇 (ancymidol) 等生長抑制劑處理可促進小塊莖形成。本研究結果中 2,4-D、NAA 與細胞分裂素等生長調節劑的施用對小塊莖形成有抑制效果。因此，是否具有促進細胞分裂生長能力之生長調節劑反而不利於小塊莖形成，則有待進一步查證。

綜合上述結果顯示，特定植物生長調節劑（如生長素之 2,4-D 及 NAA 或細胞分裂素之 TDZ），以及特定生長素與細胞分裂素的處理組合（如 NAA + TDZ），在暗培養下皆能有效促進延胡索癒合組織之增生，例如可藉由 1 mg/L NAA 配合 1 mg/L TDZ 之處理組合促進延胡索癒合組織之大量增生；而後於光照培養條件下，以不含植物生長調節劑之培養基或低濃度之 IBA 或 IAA，以及特定生長素與細胞分裂素的處理組合 (NAA + kinetin) 皆可誘導延胡索小塊莖大量形成。應用上述癒合組織增生及小塊莖誘導兩階段的組織培養操作策略，可大量增殖延胡索種苗，未來配合優良農業栽培規範 (good agricultural practice, GAP) ，將有利於優質安全生藥之生產。

誌 謝

本研究試驗材料，由中國醫藥大學陳忠川教授與郭昭麟副教授提供，試驗爲前農藝組楊淑如助理研究員（現任職台中縣清水鎮公所農業技士）所完成，特此申謝。

引用文獻 (Literature cited)

Zhang, Y. L., M. Zhou, and B. H. Zhao. 1991. Tissue culture of yanhusuo (*Corydalis yanhusuo*). Chinese Traditional Herbal Drugs 22: 463-465. (in Chinese with English abstract)

Chang, W. D., C. C. Chen, Y. S. Chang, and H. S. Tsay. 1993. Study on tissue culture of *Angelica dahurica* var. f*ormosana* I. Callus induction and medium evaluation. J. Agric. Res. China 42:253-264. (in Chinese with English abstract)

Chen, U. C., F. S. Chueh, C. N. Hsia, M. S. Yeh, and H. S. Tsay. 2005. Influence of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on leaf callus induction, proliferation and saikosaponin formation of *in vitro Bupleurum kaoi* Liu, Chao et Chuang. Crop Environ. Bioinformatics 2:39-49. (in Chinese with English abstract)

Gaspar, T., C. Kevers, C. Penel, H. Greppin, D. M. Reid, and T. A. Thorpe. 1996. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In Vitro* Cell. Dev. Biol. 32 (P):272-289.

George, E. F. 1993. Plant Propagation by Tissue Culture, Part 1. The technology. Exegetics Ltd, England. 574 pp.

Hiraoka, N., Y. Kato, Y. Kawaguchi, and J. I. Chang. 2001. Micropropagation of *Corydalis ambigua* through embryogenesis of tuber sections and chemical evaluation of the ramets. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 67:243-249.

Hiraoka, N., D. B. Indra, Y. Sakurai, and J. I. Chang. 2004. Alkaloid production by somatic embryo cultures of *Corydalis ambigua*. Plant Biotechnol. 21: 361-366.

Hu, K. 1998. Studies on tuber and second age plants of yanhusuo (*Corydalis yanhusuo*). Chinese Traditional Herbal Drugs 29:410-412. (in Chinese with English abstract)

Hu, K., and Y. Liang. 1996. Studies on tuber and first age plants of yanhusuo (*Corydalis yanhusuo*). Chinese Traditional Herbal Drugs 27:687-689. (in Chinese with English abstract)

Kuo, C. L., A. P. Sagare, S. F. Lo, C. Y. Lee, C. C. Chen, and H. S. Tsay. 2002. Abscisic acid promotes development of somatic embryos on converted somatic embryos of *Corydalis yanhusuo* (Fumariaceae). J. Plant Physiol. 159: 423-427.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.

Nalawada, S. M., A. P. Sagare, C. Y. Lee, C. L. Kao, and H. S. Tsay. 2003. Studies on tissue culture of Chinese medicinal plant resources in Taiwan and their sustainable utilization. Bot. Bull. Acad. Sin. 44:79-98.

Nigra, H. M., M. A. Alvarez, and A. M. Giulietti. 1989. The influence of auxins, light and cell differentiation on solasodine production by *Solanum eleagnifolium* cav. Calli. Plant Cell Rep. 8:230-233.

Sagare, A. P., Y. L. Lee, T. C. Lin, C. C. Chen, and H. S. Tsay. 2000a. Cytokinin- induced somatic embryogenesis and plant regeneration in *Corydalis yanhusuo* (Fumariaceae), - a medicinal plant. Plant Sci. 160:139-147.

Sagare, A. P., Y. L. Lee, and H. S. Tsay. 2000b. Application of biotechnological tools in conservation and utilization of medicinal plant genetic resource. p.171-187 *in* Agriculture of the New Century: Managing Bio-research and Bio-diversity. (W. S. Wu, S. T. Chang and B. T. Guan. eds.). College of Agriculture, National Taiwan University. Taipei.

SAS Institute Inc. 2001. SAS/STAT User's Guide. Version 8.2, vol 2. USA: SAS Inst., 943 pp.

Stuart, G. A. 1987. *Corydalis ambigua*, p.128-129. *in:* Chinese medicine series (1) Chinese material medica – vegetable kingdom, SMC publishing Inc. Taipei.

Tang, W. and G. Eisenbrand. 1992. *Corydalis turtschaninovii* Bess. f. *yanhusuo* Y. H. Chou et C. C. Hsü, p.377-393 *in*: Chinese Drugs of Plant Origin, Chemistry, Pharmacology, and Use in Traditional and Modern Medicine. (W. Tang and G. Eisenbrand. eds.). Springer-Verlag, Berlin.

Xu, X. H., G. D. Yu, and Z. T. Wang. 2004. Resource investigation and quality evaluation on wild *Corydalis yanhusuo*. China J. Chinese Materia Medica 29:399-401. (in Chinese with English abstract)

Yen, K. Y. 1997. Corydalis tuber. p.81 *in*: The illustrated Chinese Material Medica – Crude and Prepared. (translated by Nigel Wiseman). SMC publishing Inc. Taipei.

Zhang, D. X. 2003. Effects of culture environment on callus growth and dl-tetrahydropalmatine content in cultures of *Corydalis remota*. Bul. Bot. Res. 23:86-90. (in Chinese with English abstract)

Zhang S. and K. C. Cheng. 1989. *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels.: *In vitro* culture, regeneration and the production of medicinal compounds. p.1-22 *in*: Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 7 (Bajaj. Y. P. S. ed.). Springer-Verlag, Berlin.

Effects of Plant Growth Regulator and Light Treatment on Callus Proliferation and *In Vitro* Mini-tuber Formation of *Corydalis yanhusuo* [1]

Uei-Chern Chen [2], Yih-Juh Shiau [2], Hsin-Sheng Tsay [3] and Chi-Ni Hsia [2, 4]

Abstract

Chen, U. C., Y. J. Shiau, H. S. Tsay, and C. N. Hsia. 2007. Effects of plant growth regulator and light treatment on callus proliferation and *in vitro* mini-tuber formation of *Corydalis yanhusuo*. J. Taiwan Agric. Res. 56:53-63.

A two-stage micropropagation system for *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang, an important traditional Chinese medicinal plant, through callus proliferation followed by light treatment for tuber formation has been established in this study. The best callus proliferation was obtained under darkness on a Murashige and Skoog's (MS) basal medium supplemented with 1 mg/L α-naphthaleneacetic acid (NAA) in combination with 1 mg/L thidiazuron (TDZ). An 11-fold increasing of callus fresh weight was recorded after 4 weeks of culture. Although callus growth was inhibited in the same growth regulator treatments while cultured under the illumination, it was found that tuber formation increased along with some somatic embryogenesis. Among all auxin treatments, phytohormone-free, 0.5-2 mg/L indole-3-acetic acid (IAA) or indole-3-butyric acid (IBA) had the best mini-tuber formation under light culturing condition with tubers range from 23 to 28 mini-tubers per 0.2 g callus. Conclusion from our results, a two-step production protocol for *in vitro* micropropagation of *C. yanhusuo* was suggested. Callus would first proliferate on a MS basal medium containing NAA and TDZ in darkness, after subculturing into the MS basal medium only or containing lower concentration of IBA (0.5 mg/L) under light condition, a good number of mini-tubers would form from callus. Mini-tuber micropropagation with many advantages superior to seeds or *in vitro* seedling proliferation system, and by providing good quality tuber propagules for cultivation of *C. yanhusuo* may be beneficial for development and utilization of medicinal resource in Taiwan.

Key words: Yan-hu-suo, Medicinal plant, Callus, Micropropagation, Thidiazuron.

---

1. Contribution No. 2281 from Agricultural Research Institute (ARI), Council of Agriculture. Accepted: February 28 2007.
2. Respectively, Assistant Agronomist, Assistant Agronomist, Associate Researcher, Biotechnology Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Professor, Graduate Institute of Biotechnology, Chaoyang University of Technology, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
4. Corresponding author, e-mail: hsia@wufeng.tari.gov.tw; Fax: (04)23302806

台 灣 農 業 研 究 稿 約

一、本刊為行政院農業委員會農業試驗所發行之學術性季刊，刊登農業試驗研究相關之研究稿件：

論　　說：由本所邀請專家撰寫。

研究報告：關於農業科學未曾發表之研究報告，按題目、作者、摘要、前言、材料與方法、結果、討論、結論〈可略去〉、誌謝（可略去）、引用文獻等依序撰寫，圖與表附於其後，全文以不超過 10 印刷頁為原則。

研究簡報：關於農業科學未曾發表之簡短原始研究報告，不需分章節撰寫，但需附中英文摘要，全文以不超過 4 印刷頁為原則。

二、稿件應以中文或英文撰寫。來稿請送原稿及電子檔案各一份〈內各附照片原圖，繪製圖版可附原圖與影印圖片二份〉。文稿以 A4 大小之白色紙張（長 29.6 公分，寬 21 公分）兩倍行高 (double space) 打字，12 號字體，左邊對齊，版面應上下預留 3 公分，左右 2 公分之空間，並自第二頁起在右下角以阿拉伯數字註明頁數。撰寫時，中文以細明體、英文以 Times New Roman 字體打字；英文字距一格，句距二格。審查接受之稿件，隨文請附紙本文稿一份與電子檔案，以利電腦排版等作業。

三、稿件格式：

題　目：宜簡短，能充分反應文旨，並附簡題 (Running title) 。英文題目除介系詞、連接詞等字外，每字第一字母應大寫。題目附小註，說明研究報告編號。

作　者：作者姓名置中，中文名字間空一格；英文姓名則名在前姓氏在後，作者二人或二人以上時，以 “，” 相隔，最後一人前加 “and” 字樣，其表示方法如 Chen-Seng Huang, Chen-Chang Chen and Chyr-Guan Chen。每一作者需附小註，以說明所屬機關單位，通訊作者須附電子郵件信箱與傳真機號碼。題目與作者同置第一頁。

摘　要：不分段落、宜簡潔明確。摘要之前應加作者、年代、題目、期刊、卷期及頁數，摘要之後應附關鍵詞 (Key words)，關鍵詞不超過五個，每個英文關鍵詞第一字母應大寫。摘要以不超過五百字為原則。以中〈英〉文發表者須附英〈中〉文摘要，置於本文之後，且內容須與中〈英〉文摘要相符，並附稿件編號、作者、通訊作者之小註。

本　文：依序為前言 (INTRODUCTION)、材料與方法 (MATERIALS AND METHODS)、結果 (RESULTS)、討論(DISCUSSION)、結論(CONCLUSION)、誌謝(ACKNOWLEDGEMENTS)、引用文獻 (LITERATURE CITED)。除學名、專有名詞、化學式、數學公式、數字、度量衡單位及縮寫外，文句中不得中外文並用，須使用英（外）文以助明瞭時，須將英（外）文括號置於中文之後。材料與方法、結果兩部份如有必要須分章節，每一章節內並可再分小章節，以助明瞭文稿內容。章節題目 (heading) 單行置於該章節之前，小章節題目 (subheading) 直接置於小章節之首。

表　格：

1、每一表格應分別繕製，須以 word 中 “表格” 工具製作，上方須有標題，並按文中出現順序加上表 1 (Table 1.)，表 2 (Table 2.) 等冠號。

2、中文稿之表格標題應中英文並列，冠號與表幅齊頭，表內項目及內容以英文書寫。英文標題及各欄英文細目，除第一字之第一字母大寫外，餘均小寫。

3、表格應加分析、簡化與歸納後始可列表。每一表格應在文中標示清楚，以便對照。

4、表中內容如需說明，均須附加小註，以 z, y, x,…等縮小小寫字母置於右上角，並於表下依次敘述。表格僅列橫線。

5、性質類同之圖與表，務請精簡與合併。

圖　片：

1、圖版以黑色墨水分別繪圖紙或描繪紙（白色透明紙）上。如以電腦繪圖，請以鐳射印表機或同規格之印表機列印，力求清晰。

2、圖中加註者，應於圖中說明，或以括號註明於標題之後。

3、照片以光面紙爲原則，清晰度以縮小 50%可判讀爲宜。多幅照片儘量製成併版；如有特別指明，應加圈或箭頭表明。顯微照相，應加比例尺大小；照片大小以不超過版面 (25 cm × 18 cm) 爲宜。

4、圖版及照片下方應有標題（或另頁繕寫），並按文中出現的順序加上圖 1 (Fig.1)、圖 2 (Fig.2) 等冠號，

5、在文中須標示清楚，以便對照。中文稿應中英文併寫，力求明確。

6、除併圖外，每一圖片應單頁製作。

7、照片、圖片背面應註上冠號及作者姓名，以免排印錯誤。

誌　謝：不分段落，包括人物、經費來源等。誌謝可略去。

引用文獻：

1、引用文獻 (Literature cited) －列舉確實曾引用之文獻。文獻以登載於學術性期刊、書籍、研討會之 文章及學位論文爲限。文中涉及引用文獻時，根據該文獻的作者與年代加以括號：如 (Sung 1991)、(Lo 1991，1992)、(Chen & Ho 1983)、(Sung 1991; Hsu *et al.* 1992) ，置於引用文處。

2、文獻須以英文撰寫，以姓名字母爲序。作者相同時以年代先後爲序。

3、文獻之書寫方法以期刊爲例，依序爲作者、年代、題目、期刊、卷期、頁數。

4、期刊名須用縮寫，縮寫方式參照美國出版之 “Serial Sources for the BIOSIS Previews Database” 規定。

5、文獻書寫範例如下：

(1) 原中文報告引用文獻出自學術性期刊

Hsu, S. H., T. Y. Chung, T. C. Kuo, and S. F. Wang. 1992. Studies on the micro-climate of greenhouse. I. Light environment of greenhouse. J. Agric. China 157:34-43. (in Chinese with English abstract).

(2) 原中文報告引用文獻出自著作性書籍

Sung, J. M. 1991. Nitrogen Metabolism of Rice. Chinese Agronomy Press, Taipei. 100 pp. (in Chinese).

(3) 原中文報告引用文獻出自編輯性書籍

Yang, C. M. and C. Y. Lin. 2003. Studies on rice precision farming system. p.1-12. *in*: Rice Precision Farming System. (Yang, C. M. and C. Y. Lin, eds.) Agric. Res. Inst. Pub. Taichung. (in Chinese with English abstract).

(4) 原中文報告引用文獻出自研討會專刊

Chang C. A. 2001. Application and extension of virus-free seedling for the control of virus diseases of passionfruit in Taiwan. p.31-38. *in* the Proceeding of Symposium on Application of Healthy Plant for Control of Plant Diseases. Taiwan Phytopathol. Soc. Pub. Taichung. (in Chinese with English abstract).

四、單位、縮寫格式、括號及統計分析

1. 所有度量衡均採公制，數量如用中〈英〉文數字，單位以中〈英〉文全名表示；數量如用阿拉伯數字，單位以 SI units 爲準，如一公尺 (one meter, 1 m) 、二公克(two grams, 2 g) 、三公升 (three liters, 3 L) 、四毫升 (four milliliters, 4 mL) 。各常用之縮寫單位參照說明如下：

(1)長度：公里 (km)、公尺 (m)、公分〈=厘米〉(cm)、公釐〈=毫米〉(mm)、微米 (μm)。

(2)重量 (W)：公斤 (kg)、公克 (g)、μg。

(3)容積 (V)：公升 (L)、公撮〈=毫升〉(mL)、μl。

2. 溫度：攝氏（℃）、絕對溫度 (K，但須加以說明) 。
3. 時間：年 (yr)、月 (mo)、週 (wk)、日〈天〉(day, days)、時 (hr)、分 (min)、秒 (sec)。
4. 濃度：莫耳 (M)、千分之一莫耳 (mM)、當量 (N)、千分之一當量 (mN) 。
5. 重力加速度：*g*。
6. 其他之縮寫：平均 (*av*)、大約 (*ca*)、直徑 (diam.)。
7. 括號：括號內文為西文者，使用半形括號 ( )，括號前後各空一格；括號內文為中文或日文者，使用全形括號（ ），前後不空格。
8. 統計分析：達顯著性水準以*、**或處理間顯著差異區分，以 a、b、c、…表示者均應加註顯著機率值 *P*〈例如 *P*<0.01〉；各統計量請採慣用符號，例如相關係數 (*r*) 、決定係數 (R)、變異係數 (cv)、標準機差 (se) 等。

五、生物學名以斜體字表示，屬名第一字母大寫。學名於摘要、本文、每一圖表中第一次出現時，須寫全名，如 *Citrus sinensis*；第二次出現時，屬名保留第一字母後加句點 “.”，種名全寫，如 *C. sinensis*。生物學名於本文中首次出現時應加註命名者。

六、稿件內容務須依照上列規定格式書寫，本期刊編輯委員保有修改與退稿之權利。文稿經本期刊接受後，作者得送含文稿內容之磁片或電子檔案 (IBM 相容電腦之文書管理檔，如 Word 檔或其他) ，並由作者負責前二校。除筆誤與錯字外，作者在校稿時，不得擅自更改內容與數據。

七、投稿本期刊之稿件，不得投稿其他刊物。稿件經本期刊接受後，刊登權屬農試所所有，非經本所書面同意，不得轉載或移轉他處發表。

八、來稿經編審委員會審查合格後刊登，由本刊印贈抽印本 50 本；彩色頁印刷及抽印本加印費用由投稿人自行負擔。

九、其他未盡事宜本期刊得隨時修正或補充。

台灣農業研究

（原中華農業研究）

第五十六卷 第一期

中華民國九十六年三月出版

發行人：林俊義

總編輯：安寶貞

主編：方尚仁 黃淑華 蕭淑芬 楊舜臣

編審委員：

生技組：吳明哲（主審）

作物組：歐錫坤（主審）
呂秀英 陳一心 楊純明 劉新裕
施昭彰 徐信次 劉政道 黃肇家

農化組：廖慶樑（主審）
郭鴻裕 簡宣裕

植病組：張清安（主審）
安寶貞 程永雄 蔡武雄 鄧汀欽
謝廷芳

應動組：王清玲（主審）
陳炳輝 陳健忠 鄭允 溫宏治

農工組：蔡致榮（主審）
黃禮棟 梁連勝

種原組：黃勝忠（主審）

農經組：潘德芳（主審）

另聘請各大學院校及研究機關相關學者專家擔任審查委員

Vol. 56, No. 1 Dec. 2007

JOURNAL OF TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH

(Formerly Journal of Agricultural Research of China)

PUBLISHER: Lin, Chien-Yih

EDITOR IN CHIEF: Ann, Pao-Jen

EDITORS:

Fang, Shan-Jen Huang, Shu-Hua Shiau, Shu-Fen Yang, Shen-Chen

EDITORIAL BOARD:

Chang, Chin-An (Plant Pathology)
Huang, Sheng-Chung (Crop Genetic Resources)
Liaw, Ching-Liang (Agriculture Chemistry)
Ou, Shyi-Kuan (Crop Science)
Pan, Te-Fang (Agriculture Economics)
Tsay, Jyh-Rong (Agriculture Engineering)
Wang, Chin-Ling (Applied Zoology)
Wu, Min-Tze (Broechnology)

EDITORIAL ADVISORY BOARD:

Chen, Bing-Huei
Chen, Chien-Chung
Chen, Yi-Shin
Cheng, Edward Yun
Cheng, Yung-Hsiung
Chien, Shiuah-Yuh
Deng, Ting-Chin
Guo, Horng-Yuh
Hsieh, Ting-Feng
Hsu, Hsin-Tszu
Huang, Chao-Chia
Huarng, Li-Duhng
Liang, Lien-Sheng
Liou, Tsung-Dao
Liu, Sin-Yie
Lu, Hsiu-Ying
Shih, Jau-Chang
Tsai, Wu-Hsiung
Wen, Hung-Chich
Yang, Chwen-Ming

※Reviewers of the related fields are also invited from universities and other research organizations

台灣農業研究第五十六卷第一期

出 版 者：行政院農業委員會農業試驗所

發 行 人：林俊義

總 編 輯：安寶貞

地　　址：台中縣霧峰鄉萬豐村中正路一八九號

網　　址：htpp://www.tari.gov.tw

電　　話：(04)2330-2301～5

印 製 者：采京藝術印刷有限公司

地　　址：台中市西屯區河南路二段二六二號十三樓之九

電　　話：(04)2452-7929

出版日期：九十六年三月三十一日

展 售 處：國定書坊台視總店　105台北市八德路三段10號

電話：(02)2578-1515

網址：http://www.govbooks.com.tw

五南文化廣場　400台中市中山路6號

電話：(04)2226-0330

Mar. 2007

Journal of Taiwan Agricultural Research

(Formerly Journal of Agricultural Research of China)

Vol. 56, No.1

Research Reports

Susceptibility of Rice Varieties to Pale-Yellow-Leaf Type of Bacterial Leaf Blight Caused by *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*
Lih-Jiuan Hsieh, Yih-Chang Chang and Ting-Fang Hsieh......01

Effect of Different Spraying Treatments of Aminoethoxyvinylglycine (AVG) on Maturation, Preharvest Drop and Fruit Quality of 'Premier' Peach
Ming-Te Lu, Chia-Wei Song and Shyi-Kuan Ou......11

In Vitro Plantlets Acclimation and Tanshinones Analysis of *Salvia Miltiorrhiza*
Uei-Chern Chen, Chin-Yi Tsao and Chi-Ni Hsia......21

Studies on the Meteorological Resources Use Efficiency of Rice for Climate Change
Ming-Hwi Yao, Shou-Hung Chen and Kung-Shy Chi......31

Plant Growth and Yield Evaluation of Phytase Transgenic Potato
Lit-Fu Chan, Wen-Pin Tseng, Meng-Li Wei and Hsiu-Ying Lu......45

Effects of Plant Growth Regulator and Light Treatment on Callus Proliferation and *In Vitro* Mini-tuber Formation of *Corydalis yanhusuo*
Uei-Chern Chen, Yih-Juh Shiau, Hsin-Sheng Tsay and Chi-Ni Hsia......53

Published by The Taiwan Agricultural Research Institute,
Council of Agriculture Taichung, Taiwan, Republic of China
行政院新聞局出版事業登記證局版臺省誌字第二九八號 中華郵政中臺字第○三○九登記為雜誌交寄

ISSN 0022-4847
9 770022 484003
GPN 2009500560
定價：新台幣一七五元